

Contribución al estudio de la sistemática molecular de los murciélagos  
de la familia Mormoopidae

Saldaña-Vázquez, Romeo Alberto

Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México

Tesis de Licenciatura  
Carrera de Biología

Octubre 2005

Director de Tesis: Dr. Antonio Guillén Servent



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos los involucrados directa o indirectamente durante la elaboración de esta tesis. De manera particular a Cristina Bárcenas Pazos, por su ayuda con la secuenciación de mis muestras, a Alejandro Espinosa de los Monteros, por el espacio otorgado en su laboratorio, a los compañeros del Laboratorio del Dpto. de Biología Evolutiva del Instituto de Ecología A. C., por su ayuda con las dudas en los temas de sistemática, a Octavio Rojas Soto, por su consejos y la revisión de este manuscrito, a mi director de tesis, Antonio Guillén Servent, por su confianza, revisión de este manuscrito y todas las enseñanzas a lo largo de la elaboración del trabajo, a mi familia, sin cuyo apoyo no habría sido posible concluir con este ciclo y, por último, a mi Ale Tauro, por sus consejos y la revisión de este manuscrito. Durante la realización de este trabajo recibí una beca de manutención con fondos del proyecto CONACyT No.39709 (Evolución de la ecolocación en quirópteros), del cual también se financiaron los costos del trabajo de laboratorio. Así mismo, recibí apoyo económico para la impresión de este trabajo del Instituto de Ecología A. C. La Fundación SALVAZ S.A. de C.V. contribuyó recursos incalculables de forma extraoficial.

RESUMEN .....	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN .....	¡Error! Marcador no definido.
EL GRUPO DE ESTUDIO .....	¡Error! Marcador no definido.
ANTECEDENTES .....	¡Error! Marcador no definido.
CLASIFICACIÓN .....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES FILOGENÉTICAS INTRAFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES FILOGENÉTICAS INTERFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
OBJETIVOS.....	¡Error! Marcador no definido.
MATERIALES Y MÉTODOS .....	¡Error! Marcador no definido.
GENES Y TAXONES EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS DE LAS RELACIONES	
INTRAFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
GENES Y TAXONES EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS DE LAS RELACIONES	
INTERFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE ADN.....	¡Error! Marcador no definido.
INFERENCIA FILOGENÉTICA .....	¡Error! Marcador no definido.
RESULTADOS.....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES INTRAFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN ND1.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN CITOCROMO <i>B</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN RAG 2.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON LOS GENES RIBOSOMALES 12s, 16s y ARNt <sup>val</sup> .....	¡Error! Marcador no definido.
1. Búsqueda incluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales 12s,	
16s y ARNt <sup>val</sup> .....	¡Error! Marcador no definido.
2. Búsqueda excluyendo sitios no alineables de los genes ribosomales 12s, 16s	
y ARNt <sup>val</sup> .....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS COMBINADOS .....	¡Error! Marcador no definido.
1. Búsqueda incluyendo los sitios no alineables de los genes 12s, 16s y ARNt <sup>val</sup> .....	¡Error! Marcador no definido.
2. Búsqueda excluyendo los sitios no alineables de los genes 12s, 16s y ARNt <sup>val</sup> .....	¡Error! Marcador no definido.
SÍNTESIS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS INTRAFAMILIARES.....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES INTERFAMILIARES.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN RAG 2.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN DMP 1.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN EXÓN 28 del fVW.....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS CON EL GEN CITOCROMO <i>B</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
ANÁLISIS COMBINADO .....	¡Error! Marcador no definido.
SÍNTESIS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS INTERFAMILIARES.....	¡Error! Marcador no definido.
DISCUSIÓN .....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES INTRAFAMILIARES .....	¡Error! Marcador no definido.
RELACIONES INTERFAMILIARES.....	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTOS.....	¡Error! Marcador no definido.
LITERATURA CITADA .....	¡Error! Marcador no definido.

## RESUMEN

A pesar de los diversos estudios filogenéticos que han tratado de aclarar las relaciones evolutivas entre los ocho miembros existentes de la familia Mormoopidae, y las de esta familia con las demás del orden Chiroptera, el debate sigue abierto. Las hipótesis con datos morfológicos han sido incongruentes con respecto a las hipótesis con datos moleculares. Las hipótesis construidas a partir de datos morfológicos y moleculares concuerdan en apoyar la existencia de los dos géneros que se definieron en tiempos pre-cladísticos dentro de la familia Mormoopidae (*Mormoops* y *Pteronotus*). Sin embargo, hay discusión en cuanto al arreglo dentro del género *Pteronotus*. Así mismo, se ha clasificado a la familia Mormoopidae dentro de la superfamilia Noctilionoidea, linaje que tradicionalmente agrupa también a las familias de murciélagos Neotropicales Phyllostomidae y Noctilionidae. Sin embargo, las relaciones evolutivas entre estas tres familias distan de estar totalmente resueltas. Asimismo, recientes estudios han demostrado que las familias Thyropteridae y Furipteridae, también neotropicales, y la neozelandesa Mystacinidae, son también cercanas evolutivamente a las tres anteriores, y podrían incluirse en la superfamilia Noctilionoidea. Las relaciones evolutivas entre estas 6 familias también resultan inciertas. En este trabajo se generan secuencias de nucleótidos para completar la información disponible para el exón 28 del gen nuclear del Factor de von Willebrand. Después se hace uso de secuencias de nucleótidos de ADN nuclear y mitocondrial de diferentes genes, así como de dos métodos de inferencia filogenética con criterio de parsimonia, para generar y comparar distintas hipótesis filogenéticas dentro de la familia Mormoopidae, y entre las familias de su entorno filogenético inmediato. Los análisis filogenéticos con los marcadores moleculares usados apoyaron débilmente la monofilia de la familia Mormoopidae, y fuertemente la de sus dos géneros. Si bien el género *Pteronotus* apareció como monofilético, las relaciones entre las especies no están tan claras. Sin embargo, la evidencia indica que el linaje de *P. parnelli* es con gran probabilidad hermano del ancestro de todas las demás especies, mientras que el de *P. personatus* es hermano del resto de las especies, invalidando la monofilia del subgénero *Chilonycteris*. La monofilia del subgénero *Pteronotus* (*P. davyi* + *P. gymnotus*) y del resto de *Chilonycteris* (*P. macleayii* + *P. quadridens*) es ampliamente afirmada. Por otro lado, la monofilia de la familia Noctilionoidea se recuperó en la mayoría de los casos, sin embargo la estructura dentro de la misma continúa siendo poco clara.

**PALABRAS CLAVE:** Mormoopidae, filogenia molecular, Noctilionoidea, Chiroptera.

## INTRODUCCIÓN

El orden Chiroptera agrupa a todas las especies de murciélagos existentes. Es el segundo grupo taxonómico más diverso dentro de los mamíferos y uno de los más estudiados. Sin embargo, las relaciones evolutivas de sus miembros a diferentes niveles taxonómicos (familia, género y especie) no se habían podido resolver con el análisis filogenético de datos morfológicos (Smith 1972, en Simmons 1998). La reciente generación de datos moleculares, cuyo número aumenta de forma cada vez más rápida, está permitiendo la generación de hipótesis cada vez más confiables sobre las relaciones filogenéticas a distintos niveles del linaje de los quirópteros (Springer *et al.* 2001, Teeling *et al.* 2003, Van Den Bussche y Hofer 2001, Hofer *et al.* 2003).

Cuestiones clave, como el dilema de la monofilia de megaquirópteros y microquirópteros, han sido definitivamente saldadas (a favor de la monofilia) gracias a trabajos de sistemática molecular (Springer *et al.*, 2001). La disponibilidad de hipótesis filogenéticas confiables a distintos niveles taxonómicos es fundamental para el estudio y resolución de problemas en biogeografía y biología evolutiva que se plantean con estos organismos.

Actualmente se cuenta con diversas metodologías para la reconstrucción de hipótesis filogenéticas (parsimonia, distancias, máxima verosimilitud, y métodos bayesianos; De Luna *et al* 2005). Además, existe la posibilidad de usar como base caracteres morfológicos ó genéticos, y medidas directas de distancia morfológica o genética. Entre los caracteres genéticos más usados se encuentran, el tipo y número de cromosomas y sus diversas modificaciones, alelos de isoenzimas, fragmentos y puntos de corte de enzimas de restricción sobre cadenas de ácido desoxirribonucleico (ADN), fragmentos amplificados con iniciadores no específicos (RAPDs y similares), y secuencias de nucleótidos de ADN (Hillis *et al.* 1996a). Todos estos datos en forma de caracteres pueden ser utilizados como base en métodos de análisis filogenético con criterios de optimización relacionados con cambios de estado de caracteres, tales como los de parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana. Estos datos también pueden ser transformados en medidas de distancia genética, a costa de perder información, cuando son empleados en métodos de inferencia filogenética basados en criterios de optimización de evolución mínima o distancias totales (Hillis *et al.*, 1996b). Otros datos que se emplean en la inferencia filogenética, tales como la intensidad de reacciones inmunológicas, o la hibridación de ADN, constituyen medidas directas de distancia, que tan sólo pueden emplearse en métodos con criterios de optimización de distancias (Werman *et al.* 1996 y Eguiarte *et al.* 1997).

Cada vez existe mayor facilidad de obtener secuencias nucleotídicas de ADN procedente del núcleo celular o de los organelos con información genética propia, permitiendo la acumulación de conjuntos de caracteres que superan numéricamente, a veces por varios órdenes de magnitud, a la cantidad de caracteres que pueden extraerse mediante los estudios morfológicos más tradicionales. Además, este tipo de datos es más apropiado para la aplicación de métodos de análisis filogenético probabilísticos (máxima verosimilitud, inferencia bayesiana) que se basan en el ajuste de modelos de evolución. Estos datos han resultado fundamentales para dilucidar y corroborar hipótesis filogenéticas irresolubles con el análisis de los datos morfológicos en distintos grupos. Un ejemplo de ello ha sido la aclaración de las relaciones evolutivas de los cetáceos. Hoy es sabido que este orden de mamíferos está emparentado con el linaje de los artiodáctilos (herbívoros de pezuñas pares, como los venados e hipopótamos). Si bien alguien podría dudar de la solidez de dicha hipótesis por el tipo de caracteres, registros fósiles encontrados por Geisler y Uhen (2003) han corroborado la hipótesis que soportaban los datos moleculares.

En el presente estudio, planteo la revisión de la estructura filogenética de los Mormópidos, una pequeña familia de quirópteros neotropicales que muestra una notable variación en la estructura de las señales de ecolocación, y que puede resultar un modelo para el estudio de la evolución de ciertos sistemas de ecolocación, problema de interés especial para el grupo de investigación en el que me integré para realizar mi trabajo de tesis. Para la comprobación de diversas hipótesis sobre la evolución de los sistemas de ecolocación se puede emplear un estudio comparativo, pero para ello es necesario contar con una hipótesis filogenética confiable. En este sentido, para el estudio evolutivo de los sistemas de ecolocación en la familia, interesa la resolución tanto de las relaciones interspecíficas intrafamiliares, como la de las relaciones de la familia con su entorno interfamiliar más inmediato, ya que ciertos caracteres del sistema de ecolocación pueden haber evolucionado en el linaje ancestral en el cual se generó la familia. Aunque diversos autores han avanzado hipótesis basándose en el análisis filogenético de diversos conjuntos de caracteres morfológicos y moleculares (p.e. Simmons y Conway, 2001, Lewis-Oritt *et al.* 2001, Hooper *et al.* 2003), existen varios conflictos entre los resultados. En este trabajo se pretende aportar algunos datos de secuencias moleculares que complementen conjuntos de datos parciales, y analizar de forma conjunta la información aportada por diversos conjuntos de datos moleculares, con el propósito de determinar las hipótesis más confiables sobre las relaciones filogenéticas entre las especies al interior de la familia, y entre familias en el entorno interfamiliar inmediato.

## EL GRUPO DE ESTUDIO

Los Mormópidos, son una familia pequeña de microquirópteros Neotropicales con ocho especies vivas y dos formas fósiles del Cuaternario, que se agrupan en dos géneros, *Mormoops* y *Pteronotus*. A su vez, el género *Pteronotus* incluye a tres subgéneros, *Pteronotus*, *Phyllodia*, y *Chilonycteris* (Simmons y Conway, 2001). La familia es un endémico neotropical, cuya distribución es más o menos extensa en la región. Existen cinco especies con distribución mayoritariamente continental, y tres formas insulares (en las Antillas mayores), cuya distribución conjunta abarca desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el Sureste de Brasil, las Antillas Mayores, Antillas Menores y Trinidad y Tobago. Así mismo, prefieren las zonas tropicales de baja altitud.

Los Mormópidos son murciélagos de tamaño pequeño a mediano, con una longitud del antebrazo de 35-65 mm. y un peso entre 7 y 20 gr. (Simmons y Conway, 2001). Se caracterizan por la presencia de láminas sobresalientes por debajo del labio inferior. Las orejas tienen forma de embudo, poseen un trago pequeño y terminan con una curvatura muy cerca de sus diminutos ojos (Vaughan *et al.* 2000). La cola corta no alcanza el borde del uropatagio, sino que se proyecta hacia arriba desde la superficie cerca de su punto medio. El rostro está ligeramente inclinado hacia atrás (esta característica es más visible en el género *Mormoops*), y el piso de la caja craneal está elevado. El proceso coronario dental es reducido, lo que permite que las mandíbulas se abran libremente. Los dientes son típicos de un insectívoro, su fórmula dental es 2/2, 1/1, 2/3, 3/3, para dar un total de 34 piezas (Koopman, 1994).

La distribución de estos murciélagos se superpone con la de los miembros de otras familias emparentadas con ella (Phyllostomidae, Noctilionidae, Thyropteridae, y Furipteridae) (Simmons y Conway, 2001). Con las aparentemente más cercanas, Phyllostomidae y Noctilionidae, comparte ciertas características, tales como la cola igual o más corta que el uropatagio y el rhinarium y hocico modificados. Estas tres familias presentan dos pares de incisivos únicamente, y el segundo dígito del ala presenta una sola falange (Koopman, 1994).

## ANTECEDENTES

### CLASIFICACIÓN

La revisión taxonómica de los Mormópodos fue por Simmons y Conway (2001). Ellos mencionan que Leach (1821) describió el género *Mormoops*. *Pteronotus* y *Chilonycteris* fueron descritos posteriormente por Gray (1839). Durante los primeros años del siglo veinte la clasificación de la familia se basó en el trabajo de Miller (1907), quien reconocía tres géneros: *Chilonycteris*, *Pteronotus* y *Mormoops*.

Miller (1907) consideró que los tres géneros pertenecían a la familia Phyllostomidae y que debían ser agrupados dentro de la subfamilia Chilonycterinae. Más tarde, Dalquest y Werner (1954) recomendaron que se elevara la subfamilia al rango de familia. Esta sugerencia no fue aceptada, hasta la revisión de Smith (1972), que definitivamente elevó el grupo al rango de familia, con el nombre de Mormoopidae.

Smith (1972) reconoció en la familia dos géneros, *Pteronotus* y *Mormoops*. En total son ocho las especies actuales que se reconocen dentro de la familia. El género *Mormoops* incluye dos especies, *M. blanvillii* y *M. megalophylla*. El otro género, *Pteronotus*, consta de tres subgéneros: *Phyllodia* (que incluye únicamente a *Pteronotus parnelli*), *Chilonycteris* (que incluye a *Pteronotus macleayii*, *P. quadridens* y *P. personatus*) y, por último, *Pteronotus* (que incluye a *P. davyi* y *P. gymnonotus*).

La clasificación dentro de la familia Mormoopidae propuesta por Smith (1972) se ha mantenido sin modificaciones hasta la actualidad, a excepción de algunos cambios nomenclaturales como respuesta a la resolución de sinonimias (para más información ver la revisión de Simmons y Conway 2001).

## RELACIONES FILOGENÉTICAS INTRAFAMILIARES

La primera hipótesis filogenética explícita fue propuesta por Smith (1972; Figura 1). Esta hipótesis fue construida en un contexto precladístico, en el que se usaron métodos de taxonomía numérica. Estudios de cariotipos realizados a finales de los 1970s y principios de los 1980s, revelaron que todas las especies de *Mormoops* y *Pteronotus* poseen el mismo cariotipo ( $2N=38$ ,  $FN=60$ ). Por medio de la comparación de bandas G se encontró que ambos géneros comparten una fisión en el cromosoma 6/7 que no se encuentra en otras familias. Todas las especies existentes del género *Pteronotus*, comparten un patrón único de bandas G, lo cual sustentó la monofilia del género. El patrón de bandas de los *Pteronotus* presentó una sola diferencia con el patrón mostrado por el género *Mormoops*, lo que también sustentó la monofilia de este género (para más detalle, ver revisión de estos estudios genéticos en Simmons y Conway, 2001).

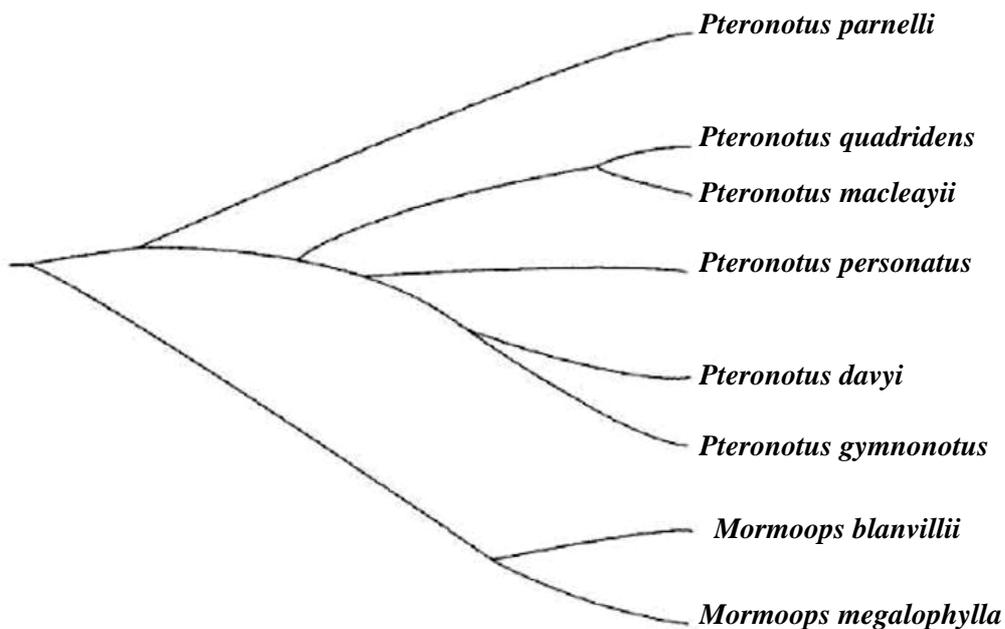


Figura 1.- Propuesta filogenética de Smith (1972), tomado de Simmons y Conway (2001).

Arnold *et al.* (1982), revisaron datos morfológicos, inmunológicos, de aloenzimas y cariotipos, disponibles para los miembros relevantes de la familia. De este estudio resultó un cladograma compuesto, construido mediante los principios de congruencia taxonómica y reglas de consenso de mayoría (Figura 2). Las relaciones que encontraron fueron completamente compatibles con la propuesta por Smith (1972). Sin embargo, en dicho árbol no se incluyó la especie *P. gymnotus* y las relaciones entre las especies de los subgéneros *Pteronotus* y *Chilonycteris* no estaban resueltas (para más detalle, ver revisión de estos estudios genéticos en Simmons y Conway, 2001).

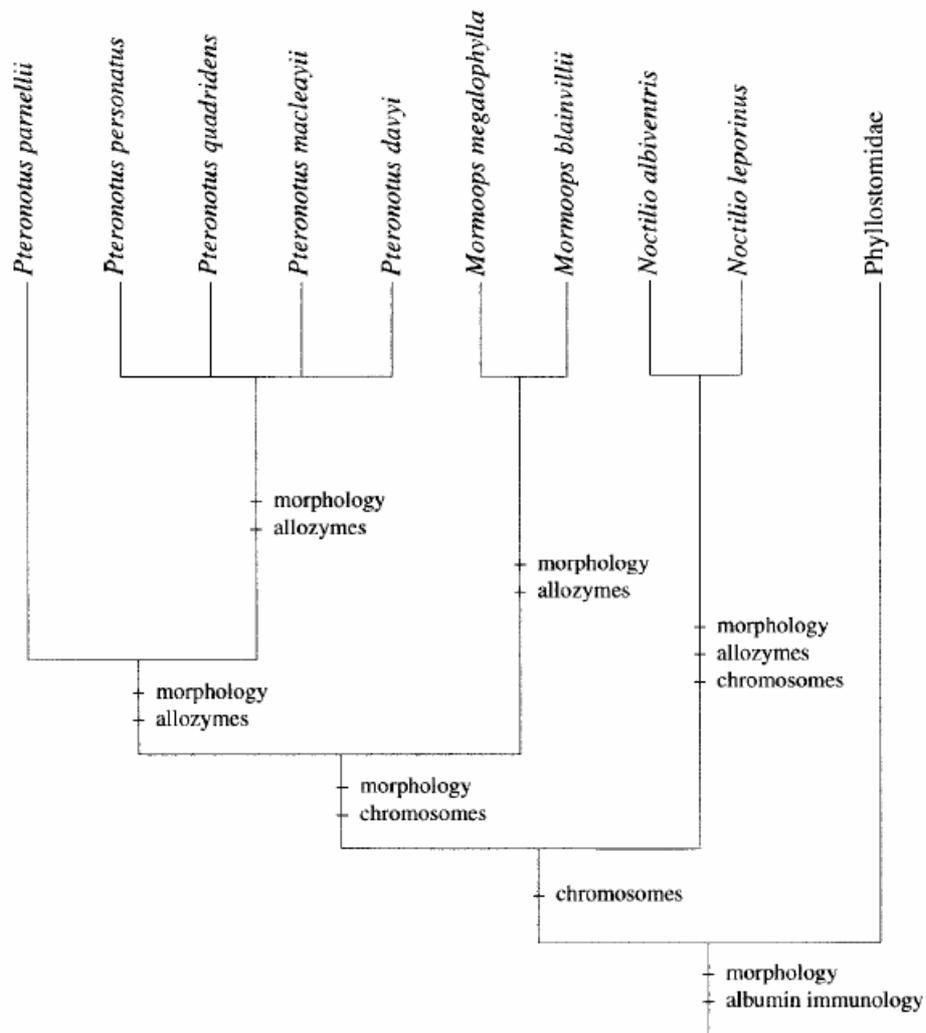


Figura 2.-Árbol construido mediante los principios de congruencia taxonómica y reglas de consenso de mayoría, por Arnold *et al.* (1982). Tomado de Simmons y Conway (2001).

Kössl *et al.* (1999), realizaron una investigación para tratar de explicar la evolución de la cóclea en los Mormópidos. Como parte de este estudio, generaron una hipótesis de las relaciones filogenéticas de la familia, con base en el análisis cladístico (parsimonia sopesada) de secuencias de nucleótidos del gen mitocondrial de la subunidad 1 de la nicotinamida deshidrogenasa (ND1). El estudio tan sólo incluyó una muestra parcial de los Mormópidos (cinco de las ocho especies de la familia): *M. blainvilli*, *P. davyi*, *P. parnelli*, *P. quadridens*, y *P. macleayii*, y empleó como grupos externos dos especies de Filostómidos, un Noctiliónido y dos Rinolófidos. Los análisis filogenéticos dieron como resultado la topología: (*Rhinolophidae* ((*Noctilionidae*, *Phyllostomidae*), (*Mormoops* (*Pteronotus* (*Phyllodia*, *Chilonycteris*))))). Los valores del análisis bootstrap para el nodo que agrupa a los Filostómidos, Noctiliónidos y Mormópidos son de más de 90%. Sin embargo, las relaciones entre especies, subgéneros, y géneros de la familia Mormoopidae no estaban bien resueltas (la mayoría de los valores de bootstrap son de menos de 65%; Kössl *et al.*, 1999).

Simmons y Conway (2001) reúnen datos de 209 caracteres morfológicos de diferentes tipos (cráneo, dentición, tráquea, lengua, oído, pelaje, etc.) para develar las relaciones filogenéticas entre los miembros existentes de la familia Mormoopidae, así como de una especie extinta de la misma familia. Al mismo tiempo incluyeron como grupos externos a tres especies de Filostómidos existentes, dos Noctiliónidos, dos Mistacínidos y un Embalonúrido. Como resultado de los análisis de parsimonia con diferentes tipos de asunciones, la monofilia de la familia Mormoopidae, y la de los géneros *Pteronotus* y *Mormoops* se mantiene. Dentro del género *Pteronotus* recuperaron frecuentemente los siguientes nodos: *P. davyi* + *P. gymnonotus* (subgénero *Pteronotus*); *P. macleayii* + *P. quadridens* (subgénero *Chilonycteris*); *P. personatus* + *P. macleayii* + *P. quadridens* (subgénero *Chilonycteris*); *P. parnelli* + *P. pristinus* + *P. macleayii* + *P. quadridens*; y *P. parnelli* + *P. pristinus* (subgénero *Phyllodia*). Estos resultados corroboraron la monofilia de la familia *Mormoopidae*, como en trabajos anteriores. Además, indicaron que los subgéneros *Pteronotus* y *Chilonycteris* son clados hermanos. No obstante, los valores del análisis bootstrap dentro de los subgéneros *Phyllodia* y *Chilonycteris* están por abajo del 70%.

Lewis-Oritt *et al.* (2001) usaron secuencias de nucleótidos de los genes Citocromo b y del Activador de la Recombinación 2 (RAG 2) para las ocho especies de Mormópidos. El resultado de los análisis de máxima parsimonia y de evolución mínima proyectaron la siguiente estructura de subgéneros: (*Mormoops*, (*Phyllodia* (*Pteronotus*, *Chilonycteris*))). Sin embargo, ambos marcadores moleculares fallaron

al momento de combinarse para establecer una hipótesis robusta dentro de los subgéneros.

Pues si bien hay valores bootstrap por arriba del 80%, no hay resolución de las relaciones históricas entre los subgéneros *Pteronotus* y *Chilonycteris*, apareciendo el primero como parafilético. Los resultados de los análisis que hicieron con el gen RAG 2 bajo el criterio de parsimonia son interesantes. Con ese marcador las relaciones entre las ocho especies de la familia son claras y robustas (soporte bootstrap generalmente por arriba del 80%), a excepción de la poca resolución de las muestras de *P. davyi* con respecto a *P. gymnonotus*. En este análisis, el linaje de *Pteronotus personatus* aparece como hermano del ancestro común del linaje que lleva al resto de las especies del subgénero *Chilonycteris* y al subgénero *Pteronotus*.

Van Den Bussche *et al.* (2002a) participaron en la búsqueda de las relaciones filogenéticas intrafamiliares de los Mormópidos. Haciendo uso de secuencias de nucleótidos mitocondriales correspondiente a los genes de las subunidades ribosómicas 12s, 16s, y del Ácido Ribonucleico de transferencia de la Valina (ARNt<sup>Val</sup>), y completando las secuencias para los taxones faltantes. Además, usaron los caracteres morfológicos del trabajo de Simmons y Conway (2001). Los análisis de máxima parsimonia de los datos moleculares, combinados con los datos morfológicos dieron fuerte soporte a la monofilia de la familia Mormoopidae (99% valor bootstrap). Sin embargo, al igual que en el trabajo de Lewis-Oritt *et al.* (2001) los subgéneros tuvieron poco soporte (valores Bootstrap, por debajo de 50%). Y agruparon de diferente forma los subgéneros ((*Mormoops*) (*Pteronotus* (*Phyllodia* (*Chilonycteris*)))).

Van Den Bussche y Weyandt (2003) presentaron una hipótesis robusta de las relaciones intrafamiliares de los Mormópidos. Usando las secuencias del trabajo de Van Den Bussche *et al.* (2002a), más las del trabajo de Lewis-Oritt *et al.* (2001). Con base en un análisis combinado de los distintos genes mediante métodos Bayesianos y de máxima verosimilitud, encontraron la siguiente topología intrafamiliar: ((*M. blainvilli*, *M. megalophylla*), (*P. parnelli*, (*P. personatus* ((*P. davyi*, *P. gymnonotus*), (*P. macleayii*, *P. quadridens*))))). Los valores bootstrap y de probabilidades bayesianas posteriores para los nodos de los subgéneros *Phyllodia* (100%, 1.0) y *Chilonycteris* (100%, 1.0) son altos. Sin embargo, *P. personatus* aparecía como hermano del ancestro común del subgénero *Chilonycteris* más el resto del subgénero *Pteronotus*, en un nodo con menor índice de soporte (65%, 1.0). Van Den Bussche y Weyandt (2003) interpretaron este resultado proponiendo que esta especie probablemente pertenezca a un subgénero no reconocido.

Se puede notar la controversia aún latente sobre las relaciones dentro de los Mormópidos. Si bien en esencia la monofilia del grupo esta sustentada, las relaciones entre sus subgéneros y especies no. De tal forma que trabajos posteriores deben develar esas relaciones intrafamiliares poco robustas, sobre todo a nivel del subgénero *Pteronotus*.

## RELACIONES FILOGENÉTICAS INTERFAMILIARES

Si bien la monofilia de los Mormópidos está bien soportada por los datos moleculares y morfológicos, también es importante conocer las relaciones de esta familia en el entorno inmediato más inclusivo.

Patton y Baker (1978) usaron datos citogenéticos (presencia compartida de 5 eventos de fusión Robertsoniana), y propusieron a los Noctiliónidos como la familia más cercana a los Mormópidos (en Simmons y Conway, 2001).

Honeycutt (1981) realizó estudios de distancias inmunológicas con dos Mormópidos (*M. megalophylla* y *P. parnelli*), un Noctiliónido (*Noctilio leporinus*), y una muestra de algunos Filostómidos, y algunos Pteropódidos (como grupo externo). Sus resultados arrojaron una hipótesis en la cual los Mormópidos aparecían como parafiléticos con respecto a los Filostómidos, aunque dada la pequeña muestra con la que trabajó, el mismo autor consideró los resultados como inconclusos.

Pierson (1986) propuso una filogenia interfamiliar para los murciélagos, empleando datos de distancias inmunológicas. La autora reportó que las familias Mormoopidae, Noctilionidae, y Mystacinidae forman un solo clado, junto con los miembros de la familia Phyllostomidae. Diez años después, Kirsch *et al.* (1998) calcularon las distancias genéticas entre representantes de la mayoría de las familias de quirópteros mediante análisis de hibridación de ADN. Estos autores encontraron una relación monofilética muy fuerte entre los miembros de las familias Mystacinidae + Noctilionidae + Mormoopidae + Phyllostomidae. Sus resultados dieron un soporte alto a la monofilia del grupo formado por los Mormópidos y Filostómidos. Sin embargo, este trabajo incluye una sola especie de Mormoopido (*P. parnelli*), y deja poco resueltas las relaciones entre Mistacínidos y Noctiliónidos.

Simmons (1998) realizó análisis filogenéticos bajo el criterio de máxima parsimonia sobre datos, obteniendo una hipótesis de las relaciones interfamiliares del orden Chiroptera que resolvía la monofilia de las familias Noctilionidae + Mormoopidae + Phyllostomidae. Sin embargo el nodo que agrupó a los Mormópidos y los Noctiliónidos posee un valor bajo de bootstrap (46%). La familia Mystacinidae aparecía como el linaje hermano más reciente de estas familias, aunque con un bajo nivel de consistencia (bootstrap de 58%).

Kennedy *et al.* (1999), con secuencias parciales del gen Citocromo b, investigaron las relaciones filogenéticas entre 34 especies de murciélagos, incluyendo a tres especies de Mormópidos (*M. megalophylla*, *P. parnelli*, y *P. davyi*).

Ellos utilizaron el criterio de parsimonia sopesada, y de máxima verosimilitud. Los resultados colocaron a *Pteronotus* como hermano de los Noctiliónidos (valores bootstrap de 100%).

Sin embargo, fueron halladas contradicciones con respecto a la posición de los Mistacinidos, bajo ambos criterios. Así mismo, *M. megalophylla* se ubicó fuera del clado de los Mormópidos, como linaje hermano del ancestro de los Noctiliónidos más *Pteronotus* y *Mystacina* bajo el criterio de parsimonia sopesada, y como linaje hermano de *Mystacina* bajo el criterio de máxima verosimilitud. Kennedy *et al.* (1999), ya nombraban en este trabajo al grupo de familias monofiléticas emparentadas a los Mormópidos como superfamilia Noctilionoidea. Nombre de una de las cuatro superfamilias de Microquirópteros reconocidas.

Otro estudio, con secuencias nucleotídicas mitocondriales de tres genes adyacentes 12s ARNr, ARNt<sup>Val</sup> y 16s ARNr fue realizado por Van Den Bussche y Hooper (2000). En él usaron 11 especies de murciélagos de familias emparentadas con los Mormópidos. Ellos incluyeron a dos Mormópidos: *M. megalophylla* y *P. parnelli*. Los análisis de parsimonia (no sopesada) soportaron la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea, incluyendo a la familia Mystacinidae dentro del grupo. Además la familia Mormoopidae y la familia Phyllostomidae eran grupos hermanos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Kirsch *et al.* (1998). A pesar de que ellos usaron otro tipo de técnicas y criterios de construcción de hipótesis filogenéticas.

Simmons y Conway (2001), así mismo, contribuyeron con su revisión morfológica de más de 200 caracteres, a develar la posición de las familias hermanas de los Mormópidos. Al igual que en el estudio de Van Den Bussche y Hooper (2000), la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea fue aparente. La estructura interfamiliar que encontraron es la siguiente: (Noctilionidae (Mystacinidae (Phyllostomidae, Mormoopidae))). Esta hipótesis tenía valores de remuestreo bajos en el nodo que agrupa a los Filostómidos con los Mormópidos (valor bootstrap de 60%).

Van Den Bussche y Hooper (2001) en su revisión de la monofilia de los miembros de la superfamilia Nataloidea. Hecha con secuencias mitocondriales nucleotídicas (12s ARNr, ARNt<sup>Val</sup> y 16s ARNr) y mediante análisis de máxima parsimonia. Vuelven a encontrar alto grado de soporte para la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea (Noctilionidae (Mystacinidae (Mormoopidae, Phyllostomidae))).

El grupo hermano de los Mormópidos serían los Filostómidos. A pesar de que los valores de soporte de los nodos dentro la superfamilia Noctilionoidea eran altos,

se incluyeron únicamente dos especies de Mormópidos en el análisis (*M. megalophylla* y *P. parnellii*). Curiosamente, los miembros de las familias Furipteridae y Thyropteridae, resultaron como familias ancestrales dentro del linaje de los Noctilionoideos, lo cual no se había sospechado con anterioridad. En particular sobresalió la inserción de *Furipterus horrens* como grupo hermano de los Noctiliónidos.

Van Den Bussche *et al.* (2002a) usaron secuencias de los genes mitocondriales generadas en su trabajo del 2001, sumadas a los datos morfológicos generados por Simmons y Conway (2001). Con ellos generaron una hipótesis filogenética bajo el criterio de máxima parsimonia, usando como grupo externo a *Saccopteryx bilineata*. La hipótesis tenía la siguiente topología: (Emballonuridae (Noctilionidae, (Mystacinidae, (Phyllostomidae, Mormoopidae))). Sin embargo los valores de soporte de los nodos que agrupan a los Filostómidos con los Mormópidos son bajos (valor de Bootstrap <50%).

Van Den Bussche *et al.* (2002b) utilizaron las secuencias del gen de la Protamina (P1) comprobando la utilidad de este marcador para aclarar las relaciones filogenéticas entre los principales grupos de mamíferos. Ellos utilizaron dentro de sus análisis a dos miembros de la familia Mormoopidae y dos miembros de la familia Phyllostomidae. Los resultados del análisis de máxima parsimonia colocaron a los Filostómidos como grupo hermano de los Mormópidos, pero con un nivel bajo de remuestreo (valor de Bootstrap de 54%). A pesar de que para el caso de la posición interfamiliar de los Mormópidos el marcador no resuelve con mucho soporte el nodo, para otros grupos sí lo hace. Por lo que los autores concluyen que dicho marcador puede ser de utilidad para resolver relaciones filogenéticas, a nivel de familia dentro de los mamíferos.

Van Den Bussche *et al.* (2003) pusieron a prueba la utilidad de otro marcador. Esta vez es el gen codificador de la proteína de la matriz de la dentina (DMP1), el cual esperaban pudiera resolver las relaciones a nivel de orden dentro de los mamíferos. Esta vez usaron a miembros de las principales familias del orden Chiroptera. Además de usar las secuencias del DMP1 para varios taxa, compararon la señal de este marcador con la de otros ya conocidos como el RAG 2 y de los genes mitocondriales de las subunidades 12s ARNr, 16s ARNr y ARNt<sup>Val</sup>. Los resultados apoyaron la propuesta de Van Den Bussche y Hooper (2001) con respecto a la inserción de la familia Thyropteridae dentro de la superfamilia Noctilionoidea.

Al combinar en el análisis bayesiano los tres marcadores moleculares, propusieron con valores altos de probabilidad (Probabilidades bayesianas

posteriores de 1.0) la siguiente topología de la superfamilia Noctilionoidea: (Noctilionidae (Thyropteridae (Mormoopidae, Phyllostomidae))). Esta hipótesis apoyó la topología de la superfamilia Noctilionoidea. Sin embargo, quedaron fuera del análisis miembros de otras familias (Mystacinidae y Furipteridae) que habían sido propuestas como parte del grupo. Una de ellas de especial interés, pues en el trabajo hecho en el 2001 por los mismos autores resultó hermana de los Noctiliónidos (Van Den Bussche y Hooper, 2001).

Teeling *et al.* (2003) publicaron una hipótesis filogenética acerca de la posición que ocupa la familia Mystacinidae dentro de la superfamilia Noctilionoidea. Teeling *et al.* (2003) recurrieron a la concatenación de diferentes secuencias nucleotídicas nucleares codificadoras de proteínas. Estas secuencias fueron generadas previamente por otros autores. Los análisis fueron hechos bajo los criterios de máxima parsimonia, máxima verosimilitud y métodos bayesianos. La hipótesis propuesta por estos autores recupera con altos valores bootstrap y probabilidades posteriores bayesianas (> 90% y 1.0 respectivamente) la siguiente topología de la superfamilia Noctilionoidea: (Mystacinidae (Noctilionidae (Mormoopidae, Phyllostomidae))). Sin embargo, usaron una sola especie de cada familia y dos en la familia Phyllostomidae y no incluyeron ningún miembro de las familias Thyropteridae y Furipteridae.

Hooper *et al.* (2003), realizaron una revisión taxonómica de las superfamilias Noctilionoidea y Vespertilionoidea. Esto, utilizando secuencias de nucleótidos de los genes mitocondriales de las subunidades 12s ARNr y 16s ARNr y del ARNt<sup>Val</sup> además del gen nuclear RAG 2. Haciendo análisis bayesianos de los dos marcadores en conjunto recuperaron la siguiente topología para la superfamilia Noctilionoidea: (Mystacinidae, ((Thyropteridae, (Furipteridae, Noctilionidae)), (Mormoopidae, Phyllostomidae))). Los valores de probabilidades bayesianas posteriores para los nodos interiores de la superfamilia obtenidos son por arriba del 0.9. Así mismo, solo se tomó en cuenta a *P. davyi* y a *M. megalophylla* como miembros de la familia Mormoopidae.

Los trabajos ya mencionados son prueba de las controversias existentes a este nivel taxonómico con la familia Mormoopidae. Está claro que las familias Mystacinidae, Noctilionidae, Mormoopidae y Phyllostomidae forman un grupo monofilético. Sin embargo, también existen hipótesis que incluyen a las familias Thyropteridae y Furipteridae como familias pertenecientes a los Noctilionoideos. La hipótesis propuesta por Hooper *et al.* (2003): (Mystacinidae ((Thyropteridae (Furipteridae, Noctilionidae)), (Mormoopidae, Phyllostomidae))), se puede poner a prueba aumentando el número de especies de las familias de interés, e incrementando el número de caracteres.

## OBJETIVOS

1. Comparar las hipótesis de relaciones filogenéticas dentro de la familia Mormoopidae que se obtienen mediante el análisis de las secuencias de nucleótidos de los genes: Activador de la recombinación 2 (RAG 2), Citocromo *b* (CITB), Subunidad 1 de la nicotinamida deshidrogenasa (ND1), y el conjunto de genes de Ácido Ribonucleico: Subunidad Ribosómica 12S (ARNr), Subunidad Ribosómica 16s y Ácido Ribonucleico de transferencia de la Valina (ARNt<sup>Val</sup>); (ARNs) por separado y en un análisis combinado.

2. Comparar las hipótesis de relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae en su entorno interfamiliar inmediato que se obtienen mediante el análisis de las secuencias de nucleótidos de los genes: Activador de la recombinación 2 (RAG 2), Exón 28 del Factor de von Willebrand (e28fvW), Proteína de la matriz de la dentina 1 (DMP1) y Citocromo *b* (CITB), por separado y en un análisis combinado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### GENES Y TAXONES EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS DE LAS RELACIONES INTRAFAMILIARES

Para concretar el primer objetivo de este trabajo, usé secuencias de nucleótidos generadas por otros autores. La batería de genes mitocondriales y nucleares que usé fue la siguiente: gen de la recombinación activa (RAG 2, 1.4 kb), Citocromo *b* (CIT *B*, 1.1 kb), nicotinamida deshidrogenasa subunidad 1 (ND1, 0.96 kb), subunidad 12s de ácido ribonucleico ribosomal (12s ARNr, 0.97 kb), subunidad 16s ARNr (1.5 kb), y del gen de transferencia de la valina (ARNt<sup>Val</sup>, 0.68 kb), para las ocho especies de la familia Mormoopidae, y como grupos externos incluí las especies *Mystacina tuberculata* (Mystacinidae), *Desmodus rotundus*, *Centurio senex*, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae), *Noctilio leporinus*, *N. albiventris* (Noctilionidae), *Thyroptera tricolor* (Thyropteridae), *Furipterus horrens* (Furipteridae), *Emballonura atrata* y *Saccopteryx bilineata* (Emballonuridae).

El gen RAG 2 se ubica en el núcleo de los linfocitos de los vertebrados y tiene una longitud de 1400 pares de bases (pb) (Baker *et al.* 2000). Las proteínas codificadas por este gen, junto con las del gen RAG 1, catalizan la recombinación de los segmentos de genes: variable (V), diversidad (D), e unión (J). Los segmentos V, D y J intervienen en la producción de anticuerpos funcionales y receptores de las células T para la memoria inmunológica (Akamatsu y Oettinger 1998). El alto grado de conservación de este gen, lo coloca como un marcador útil para resolver relaciones filogenéticas en niveles taxonómicos profundos y en organismos con diferenciación reciente (Schluter y Marchaloni 2003; Baker *et al.* 2000). El gen Citocromo *b* (1140 pb) y el gen ND1 (960 pb) forman parte de los genes citoplasmáticos de la mitocondria de los vertebrados y de otros animales. Las proteínas codificadas por estos genes forman parte de la membrana mitocondrial, encargada de la fosforilación oxidativa (Citocromo *b*) y la cadena respiratoria (ND1). Estos genes proveen información para resolver relaciones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos (Meyer 1994; Beebe y Rowe 2004). Otros genes mitocondriales importantes son los que codifican las subunidades moleculares 12s (970 pb), 16s (1500 pb) y de transferencia de la valina (680 pb) de ácido desoxirribonucleico, estas subunidades sintetizan a su vez proteínas codificadas en el núcleo mitocondrial (Beebe y Rowe 2004).

Usé secuencias de un individuo por especie. En el caso de las familias Emballonuridae y Noctilionidae, no estaban disponibles las secuencias de todos los genes para las mismas especies. En el análisis filogenético es preferible incluir secuencias construidas con una combinación de taxones que pertenecen a una misma unidad terminal a la escala del análisis, que incluir múltiples taxones terminales con muchos datos faltantes.

Por lo tanto, para poder hacer los análisis combinados, ensamblé las secuencias de especies diferentes dentro de ambas familias, construyendo secuencias mosaico. Esta estrategia mejora la resolución de las hipótesis filogenéticas cuando estos taxones mosaico se usan como grupo externo (Springer *et al*, 2004). Las especies, genes y sus respectivos números de acceso al GenBank se encuentran en el Cuadro 1.

Van Den Bussche y Weyandt (2003) ya habían empleado los genes RAG 2 (nuclear), CITB, y ARNs, en un análisis combinado. Como ya he mencionado en los antecedentes estos autores recuperaron la monofila de la familia Mormoopidae, así mismo la hipótesis propuesta mostró valores bajos de bootstrap en los nodos que agrupan al subgénero *Pteronotus*. Por lo tanto, creí conveniente usar los datos disponibles del gen ND1 y realizar un análisis combinado de dicho gen con los usados por esos autores. El gen ND1 es un marcador molecular que ha recuperado relaciones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos en mamíferos y vertebrados con eficiencia (Zardoya y Meyer, 1996). Por otro lado, no se habían usado como grupos externos miembros de otras familias cercanas a los Mormópidos.

Cuadro 1. Números de acceso en el GenBank de las secuencias utilizadas.

ESPECIE	RAG 2	CITB	ND1	ARNs
<i>Mormoops blainvilli</i>	AF338701	AF338686	AF143000	AF407172
<i>M. megalophylla</i>	AF330818	AF338690		AF407174
<i>Pteronotus davyi</i>	AF338693	AF338672	AF142996	AF407176
<i>P. gymnonotus</i>	AF338694	AF338675		AF407177
<i>Pteronotus macleayii</i>	AF338700	AF338683	AF142997	AF407178
<i>Pteronotus parnellii</i>	AF330817	AF338665	AF142998	AF407181
<i>P. personatus</i>	AF338699	AF338680		AF407182
<i>P. quadridens</i>	AF338696	AF338682	AF142999	AF407179
<i>Noctilio leporinus</i>			AF142994	
<i>N. albiventris</i>	AF330811	AF330803,		AF263223
<i>Emballonura alecto</i>			AB079808	
<i>S. bilineata</i>	AY316485	AF044664,		AF263213
<i>M. tuberculata</i>	AY141021	AY960981	AY960981	AF263222
<i>Thyroptera tricolor</i>	AY141028			AF263233
<i>Furipterus horrens</i>	AY141016			AF345922
<i>Centurio senex</i>	AF316438	L19509		AF263227
<i>Artibeus jamaicensis</i>	AY011963	U66504	AF061340	AF263225
<i>Desmodus rotundus</i>	AF316444			AF263228

Alineé y edité las secuencias con los programas Clustal X (Thompson *et al.*, 1997) y SeaView (Galtier *et al.*, 1996) para cada gen por separado. El alineamiento

de los genes codificadores de proteínas (RAG 2, Citocromo b y ND1) fue de forma visual con el programa SeaView. Corroboré siempre que los sitios alineados cumplieran con las asunciones de homología y que correspondieran espacialmente las posiciones de los codones. En el alineamiento de estos genes no hubo ninguna delección o inserción.

Los genes de ácido ribonucleico que codifican para las diferentes subunidades ribosomales (ej. 12s, y 16s) poseen una intrincada forma. Según el modelo bidimensional de Gutell *et al.* (1994) las estructuras secundarias de las subunidades ribosomales poseen un arreglo basado en tallos y asas. Los tallos están formados por interacciones entre guanina-citosina ó citosina-guanina, y son regiones que se conservan a lo largo del tiempo. Sin embargo, en las regiones de las asas los nucleótidos no se encuentran pareados y no tienen la restricción de empatarse, con lo cual son más propensas a mutar, sufriendo frecuentes inserciones y eliminaciones de bases. Debido a estas razones, el alineamiento de estos genes no resulta trivial, por lo cual tuve que aplicar un algoritmo automático, tal como viene implementado en el programa Clustal X (Thompson *et al.*, 1997). En el caso de genes cuya evolución permite la ocurrencia de eventos de inserción o supresión de nucleótidos, es necesario hipotetizar la apertura de huecos ("*gaps*" en lengua inglesa) en un alineamiento de múltiples secuencias, ya que de otra forma se impide el establecer de forma correcta la homología posicional. Los huecos pueden aportar información histórica, por lo cual en muchos casos se pueden incluir en el análisis como un carácter adicional (Giribet y Wheeler, 1999). En el alineamiento de los genes ribosomales de la mitocondria usé una penalización con valor de 10 a la apertura de un hueco y con un valor de 4 la extensión del hueco. Cuando comparé el resultado con los valores de penalización que por omisión posee Clustal X (15 y 6.66 respectivamente) con el resultado obtenido con los valores de 10 y 4, éste último resultó en más aperturas de huecos en los sitios de difícil alineamiento y, consecuentemente, una mayor coincidencia del estado de las posiciones superpuestas. Después de obtener el alineamiento automático, realicé una inspección visual para identificar las regiones de mayor conflicto. Al comparar con los modelos de la estructura secundaria de las subunidades del ribosoma (Springer y Douzery, 1996), observé que las regiones con muchos huecos y poca congruencia entre secuencias, correspondían a las asas de la estructura bidimensional de las subunidades ribosomales. Ante la evidente dificultad en establecer con certidumbre la homología posicional de estas regiones, opté por identificarlas como un conjunto de datos especial.

Los análisis en los cuales se incluyeron los genes ribosomales se realizaron incluyendo este conjunto de datos, y se repitieron excluyéndolo. Una vez alineados

cada uno de los genes, los concatené en un solo conjunto de datos en formato Nexus (Maddison, Swofford y Maddison, 1997), identificando cada gen como un conjunto de caracteres independiente con la opción "charset" de PAUP (Swofford 1999).

## GENES Y TAXONES EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS DE LAS RELACIONES INTERFAMILIARES

Para alcanzar el segundo objetivo de este trabajo usé las secuencias nucleotídicas de los genes nucleares: Activador de la recombinación 2 (RAG 2, 1.4 kb), exón 28 del Factor de Willebrand (e28fvW, 1.2 kb), y de la proteína de la matriz de la dentina 1 (DMP1, 1 kb) y las del gen mitocondrial Citocromo *b* (1.1 kb). Como mencioné en la sección intrafamiliar, el gen RAG 2 es un marcador molecular que ha resuelto con eficiencia relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos superiores (familia u orden; Van Den Bussche y Hooper, 2001; Teeling *et al.* 2003), y dada la disponibilidad de secuencias de ese gen para los miembros de la superfamilia Noctilionoidea decidí usar este gen para este objetivo. El exón 28 del Factor de Willebrand es parte de un gen de copia única localizado en el brazo corto de cromosoma 12 de las células vasculares endoteliales. El e28fvW es uno de los 52 exones encargados de la codificación de una glicoproteína plasmática, la cual regula la adhesión de plaquetas al tejido dañado, además de estabilizar la coagulación de la sangre por el factor VII. El e28fvW tiene una longitud de 1284 pares de bases en el humano. Recientemente varios autores emplearon este gen para resolver relaciones filogenéticas en mamíferos (Huchon *et al.* 1999 y Douay, 2001). Teeling *et al.* (2003) usaron secuencias del e28fvW para un análisis de las relaciones interfamiliares entre todos los quirópteros, para lo cual la resolución del gen resultó apropiada. Estos autores usaron la secuencia de tan sólo una especie de la familia Mormoopidae (*P. parnellii*). El gen exón 6 de la proteína de la matriz de la dentina es otro de los genes que ha demostrado ser útil para resolver relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos profundos. Las proteínas codificadas por este gen tienen la función de mineralizar la dentina de los dientes en los mamíferos (Van Den Bussche, *et al.* 2003). Este gen se expresa en los odontoblastos. Los odontoblastos son células derivadas del proceso de formación de dientes mediado por el tejido epitelial y mesenquimatoso (Thotakura, *et al.* 2000). El número de pares de bases que comprende al exón 6 del gen DMP 1 es de 1048, con diversas variaciones dependiendo del taxón. Usé el gen Citocromo *b* en este análisis, ya que en trabajos anteriores ha resuelto relaciones filogenéticas a nivel de familia en quirópteros (Kennedy *et al.* 1999), y porque las secuencias estaban disponibles para los Noctilionoideos.

Usé las secuencias de estos genes para todas las especies de Mormópidos en los cuales la mayor parte de este conjunto total estaba disponible o se pudo completar con trabajo en el laboratorio molecular. Las especies de esta familia para las cuales se dispuso del conjunto total de genes mencionado fueron: *Mormoops*

*megalophylla*, *Pteronotus parnelli*, y *Pteronotus personatus*. Además, se consideraron todos los taxones potencialmente pertenecientes al entorno interfamiliar más inmediato, definido como los miembros potenciales de la superfamilia Noctilionoidea, a saber: *Mystacina tuberculata* (Mystacinidae), *Desmodus rotundus*, *Centurio senex*, *Tonatia bidens*, *Tonatia saurophila*, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae), *N. leporinus*, *N. albiventris* (Noctilionidae), *Thyroptera tricolor* (Thyropteridae) y *Furipterus horrens* (Furipteridae). Los miembros de la familia Emballonuridae, *Emballonura atrata* y *Saccoptery bilineata*, así como de la familia Natalidae *N. stramineus*, que operaron como grupo externo, bien de forma individual en los análisis de genes individuales o en el caso de *Emballonura atrata* y *Saccoptery bilineata*, como mosaico en los análisis combinados.

La mayoría de las secuencias de los genes RAG2, DMP1, y Citocromo *b* estaban disponibles en el GenBank (Cuadro 2). En el caso del gen e28FvW, Teeling *et al.* (2003) tan sólo generaron secuencias para un Mormoópido, *Pteronotus parnelli*. Con el fin de aumentar la cantidad de especies de la familia Mormoopidae, obtuve secuencias parciales (888 pb) de este gen para las especies *M. megallophyla* y *P. personatus*.

Van Den Bussche, *et al.* (2003) usaron el gen DMP 1 en combinación con otros con el fin de generar una hipótesis filogenética robusta dentro de las principales familias de quirópteros. A pesar de que sus resultados son robustos (probabilidades posteriores bayesianas de 1), pretendí poner a prueba su hipótesis para los Noctilionoideos combinando las secuencias disponibles del gen DMP 1 con las de otros marcadores, además de agregar uno de los taxones faltantes, *M. tuberculata*. Las secuencias de los demás genes ya habían sido usadas de forma independiente para establecer las relaciones filogenéticas de miembros de la superfamilia Noctilionoidea (Hofer *et al.* 2003; Teeling *et al.* 2003; y Van Den Bussche *et al.* 2003). Sin embargo, no se habían usado en conjunto y con los mismos grupos externos. Por otro lado, la inclusión de secuencias de más taxones de la familia Mormoopidae contribuye a la eliminación de las ramas largas, que podrían haber tenido el efecto de localizar a los mormoópidos en posiciones incorrectas, como en el caso del estudio de Kennedy *et al.* (1999) con el gen Citocromo *b*, ya referido en la sección de antecedentes.

Alineé y edité las secuencias siguiendo el mismo procedimiento de la sección intrafamiliar. En este caso los taxones mosaico fueron *S. bilineata*-*E. atrata* y *T. saurophila*-*T. bidens* pues no existían todos los genes para ninguna de estas especies.

Cuadro 2. Números de acceso del GenBank para las secuencias utilizadas en el análisis interfamiliar. No se incluyen los números de acceso para los genes que también se emplearon en el análisis intrafamiliar, que se anotaron en el Cuadro 1.

<b>ESPECIE</b>	<b>RAG 2</b>	<b>DMP 1</b>	<b>Exón 28 fvW</b>	<b>Citocromo <i>b</i></b>
<i>Natalus stramineus</i>	AY141024	AY141884	AF447545	
<i>S. bilineata</i>	AY141015	AY141878		
<i>Emballonura atrata</i>			AF203776	
<i>Tonatia saurophila</i>			U31622	
<i>Tonatia bidens</i>	AF203763			
<i>Centurio senex</i>		AY141887		
<i>A. jamaicensis</i>			AY834737	
<i>D. rotundus</i>			AF447550	
<i>N. albiventris</i>		AY141885	AF447544	
<i>N. leporinus</i>	AF316477	AY141886		AF330794
<i>Thyroptera tricolor</i>		AY141890	AY834739	
<i>Furipterus horrens</i>			AY834740	
<i>Mormoops megallophyla</i>		AY141880		
<i>Pteronotus parnelli</i>		AY141881	AY245420	
<i>Mystacina tuberculata</i>			AY245421	

## EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE ADN

Secuencié una porción del gen e28FvW de un individuo de cada una de las especies *Mormoops megalophylla* y *Pteronotus personatus*. Las muestras de tejido se obtuvieron de la colección de tejidos que el Dr. Antonio Guillén Servent mantiene en el Instituto de Ecología, A. C. Los especímenes corresponden a los números de campo TG010321-23 (*M. megalophylla*) y TG031020-01 (*P. personatus*) y proceden de individuos colectados en la Sierra de Huautla, Estado de Morelos. Los especímenes están depositados en la colección de quirópteros del Departamento de Biodiversidad y Ecología Animal del Instituto de Ecología, A. C., en Xalapa.

El material de origen consistió en porciones de tejido hepático preservado en una solución tamponada hipersalina y detergente (20% Dimetil Sulfoxido, DMSO 0.25 Molar EDTA sódico, y NaCl a saturación, pH 7.5; Seutin *et al.* 1991). Para la extracción de Ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico utilicé el protocolo del Kit de extracción Puregene (Gentra Systems), o el de Fetzner (1999). El extracto de ADN final fue suspendido en un volumen de 50 µl de agua desionizada y libre de pirógenos. Dos microlitros de esta suspensión final fueron corridas por electroforesis en un gel de agarosa al 1%, junto con marcadores estándar, para comprobar su calidad (presencia de fragmentos de alto peso molecular) y concentración aproximada.

Para la amplificación del fragmento de ADN de interés empleé la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Para ello utilicé los iniciadores vWFe28A2AG y vWFe28A2BG, localizados a unos 880 nucleótidos de separación sobre el exón 28 del gen para el Factor de von Willebrand, y diseñados por el Dr. Antonio Guillén (A. Guillén, comunicación personal). Para la reacción de PCR seguí metodologías estándar (Palumbi 1996), adaptadas a las características del gen objetivo (Huchon *et al.*, 1999, y Guillén-Servent, comunicación personal). La mezcla de reacción incluyó: 2.5 µl de solución tampón (Promega M190A), 2.5 µl de trifosfatos de desoxinucleótidos (DNTPs) a una concentración total de 8 milimolar (mM), 2 µl de MgCl<sub>2</sub> a una concentración de 25 mM (concentración final de 2 mM; MgCl<sub>2</sub>, Promega A351B), 1.30 µl del iniciador vWFe28A2AG, 1.30 µl del iniciador vWFe28A2BG, ambos en solución 20 µM, 15.3 de agua bidestilada estéril y 0.5 unidades de polimerasa de *Thermus aquaticus* (Taq), sumando a un total de 25 µl por reacción. Las reacciones se llevaron a cabo en un Termociclador GeneAmp 2400 (Applied Biosystems), con las siguientes condiciones: Iniciación a 94°C por 120 segundos (seg), desnaturalización a 94°C por 30 seg, alineamiento a 54°C por 30 seg, extensión a 72°C por 70 seg y una extensión final a 72°C por 180 seg, repitiendo 34 veces el ciclo desde la desnaturalización hasta la extensión.

Una vez obtenida una cantidad adecuada de productos de amplificación, los corrí por 120 min a 60 Voltios en un gel de agarosa al 1.2% con solución tampón de Tris-acetato-EDTA (TAE) con Bromuro de Etidio al 1/1000 V/V. Seccioné las bandas de gel que contenían el producto de interés sobre un transiluminador de luz Ultravioleta de 365 nm. Los productos de PCR fueron aislados de las bandas con el kit de purificación GENECLEAN III KIT (BIO101, Inc.). Una vez purificado el ADN, realicé las reacciones de secuenciación en ambos sentidos (Hillis *et al.* 1996a), empleando los reactivos del kit de secuenciación BigDye Terminator (Applied Biosystems). La composición de las reacciones de secuenciación fue: 1  $\mu$ l de DMSO puro, 5.7  $\mu$ l de agua doble destilada y desionizada, 3.2 micromoles del iniciador de interés, unos 50 microgramos del producto de PCR purificado, 2  $\mu$ l de BigDye Terminators, y 3  $\mu$ l de solución tampón de los BigDye Terminators (Applied Biosystems). Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo en un Termociclador GeneAmp 2400 (Applied Biosystems), con las siguientes condiciones: Iniciación a 96°C por 90 seg, desnaturalización a 96°C por 10 seg, alineamiento a 54°C por 15 seg, extensión a 60°C por 4 min y una extensión final a 72°C por 7 minutos, repitiendo 35 veces el ciclo desde la desnaturalización hasta la extensión.

Precipité los productos de las reacciones de secuenciación con isopropanol (manual de protocolos kit de secuenciación BigDye Terminators, Applied Biosystems). Después se resuspendieron en 20  $\mu$ l de formamida pura desionizada, y fueron sometidos a electroforesis de capilar en un secuenciador automático ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las dos secuencias complementarias obtenidas para cada espécimen fueron ensambladas y editadas empleando el programa ChromasPro Versión 1.21 (Technelysium Pty Ltd). Obtuve secuencias parciales de 888 nucleótidos de cada taxón de interés.

## INFERENCIA FILOGENÉTICA

Realicé todos los análisis con el programa PAUP (Swofford, 1999). Codifiqué todos los nucleótidos como caracteres discretos, con cuatro diferentes estados: adenina (A), timina (T), guanina (G), citosina (C). Cuando alguna secuencia no se encontró disponible para algún taxa, se completo la matriz de datos llenando los huecos con el carácter N, que fue declarado como dato faltante en la cabecera del archivo Nexus. Los huecos generados por los algoritmos de alineamiento también fueron declarados como datos faltantes.

Llevé a cabo los análisis para cada gen por separado, y después los concatené para realizar un análisis conjunto. Esto me permitió comparar la señal filogenética de los distintos genes, y las topologías y grados de soporte que se obtenían con cada uno de ellos. Con ello pude valorar la contribución de los distintos genes al resultado conjunto.

En el primer paso del análisis, realicé un análisis gráfico para comprobar el grado de saturación de las sustituciones nucleotídicas. Elaboré gráficas representando el porcentaje de nucleótidos que correspondían a sustituciones transversionales (TV) y transicionales (TI) en la comparación de las secuencias de cada par de taxones, frente a la distancia genética correspondiente, corregida y estimada por medio del modelo evolutivo de dos parámetros de Kimura (1980; en Page y Holmes, 1998). La razón de utilizar el porcentaje de sustituciones en vez de los números absolutos, se debe a que para algunos taxones tan sólo estaba disponible una porción de la secuencia del gen en cuestión. Este tipo de análisis me permitió detectar de forma visual si las sustituciones observadas en los nucleótidos (TV y TI) habían alcanzado la saturación en los distintos genes y su combinación.

Para comprobar si la matriz de datos poseía señal filogenética significativa, calculé el estadístico de asimetría  $g_1$  de la distribución de las longitudes de un conjunto de 10,000 árboles construidos al azar, para los datos por gen y en combinación. Cuanta más señal histórica contiene el conjunto de datos, más asimétrica es la distribución de longitudes obtenida, ya que unos pocos árboles tienen longitudes considerablemente más cortas que el conjunto. Sin embargo, si la señal es aleatoria con respecto a la historia filogenética, la distribución de longitudes tiende a ser simétrica, pues no hay topologías significativamente más cortas (Hillis y Huelsenbeck 1992). Comparé los valores obtenidos de  $g_1$ , con los valores de significancia ( $g_1$  significativamente menor,  $P < 0.05$ , que las obtenidas con conjuntos de un número similar de secuencias aleatorias de longitud similar) reportados por Hillis y Huelsenbeck (1992).

Realicé las búsquedas de las mejores hipótesis (árboles) según un criterio de optimización de parsimonia máxima mediante algoritmos heurísticos y exhaustivos (cuando la capacidad computacional y los límites de los programas me lo permitieron).

Para las búsquedas heurísticas se empleó un proceso de adición secuencial de taxones de forma aleatoria, con un algoritmo de intercambio por permutación global de ramas. La búsqueda se realizó mil veces. Finalmente, obtuve los índices de consistencia y de retención de cada una de las mejores hipótesis encontradas.

Posteriormente procedí a un análisis de parsimonia sopesada, dando a los cambios transversionales un costo mayor que a los transicionales, acorde a la tasa evolutiva de cada uno de ellos. Dado que las transiciones ocurren a una mayor tasa, en el caso de darse un tiempo largo de evolución, es fácil que se acumulen sustituciones múltiples sobre los mismos sitios, lo cual viola las asunciones de la máxima parsimonia. En este caso podemos encontrar dificultades en recuperar las relaciones correctas, debido a que las coincidencias aleatorias entre taxones evolutivamente alejados pueden pesar de forma importante (p.e. El problema de atracción de ramas largas; Jin y Nei, 1990). Los cambios transversionales ocurren, en general, a una tasa mucho menor, con lo cual pueden conservar mayor señal filogenética que las transiciones, aún en casos de ramas largas, siempre bajo el criterio de parsimonia. Por ello, en ciertos casos conviene dar un mayor peso a este tipo de sustituciones, asociándolos a un mayor costo en la matriz de cambios de estado. En el caso de los Mormópidos, hay evidencia de que el tiempo de la separación de varios de los linajes del grupo interno (a saber, la separación del género *Mormoops* del género *Pteronotus*) tuvo lugar en un momento lo suficientemente profundo en el tiempo como para suponer que las sustituciones transicionales de algunos genes han alcanzado la saturación. En este sentido, parecía adecuado aplicar análisis de parsimonia sopesada, y comparar los resultados con el análisis de máxima parsimonia. Decidí asignar a las transversiones un costo en pasos equivalente a la tasa de transiciones/transversiones, dejando un costo de un paso a las transiciones. Para ello, estimé el valor de la tasa de transiciones/transversiones ( $\kappa$ ) sobre las topologías en la primera búsqueda, empleando un procedimiento de ajuste por máxima verosimilitud, bajo un modelo de evolución molecular de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY85 en Hillis *et al.* 1996b). Asigné a las transversiones un costo equivalente al valor de  $\kappa$ , y procedí a hacer de nuevo una búsqueda bajo el criterio de parsimonia, con las mismas características anteriormente descritas, pero con la nueva matriz de costos.

Evalué la confianza que podía asignar a cada nodo de las hipótesis obtenidas mediante un procedimiento de Bootstrap (Felsenstein 1985). Estos análisis constaron de mil réplicas de secuencias remuestreadas, cada una de las cuales fue sometida a 10 búsquedas heurísticas con adición aleatoria de las secuencias y con el algoritmo de permutación global de ramas. En todos los casos, las topologías se representaron especificando como grupo más externo la secuencia o mosaico de secuencias correspondientes a la familia Emballonuridae.

## RESULTADOS

### RELACIONES INTRAFAMILIARES

#### ANÁLISIS CON EL GEN ND1

Excluí de este análisis los taxones para los cuales no existía información de este gen (*T. tricolor*, *F. horrens*, *D. rotundus*, *C. senex*, *M. megalophylla*, *P. gymnonotus*, *P. personatus*). Para algunos de los taxones que usé no estuvieron disponibles las secuencias completas de 960 pb, como fue el caso de *M. blainvilli* (920 pb), *P. davyi* (906 pb), *P. macleayii* (880 pb), *P. parnelli* (891 pb) y *P. quadridens* (902 pb). El alineamiento de este gen para los taxones examinados me dio como resultado 960 posiciones alineadas, de las cuales 541 fueron constantes, 148 variables pero no informativas, y 271 variables e informativas. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.4523$ ;  $P < 0.01$ ). La gráfica de saturación permite observar que hay un importante grado de saturación en ambos tipos de sustituciones, siendo más notable en el caso de las transiciones (Ti) (Figura 3).

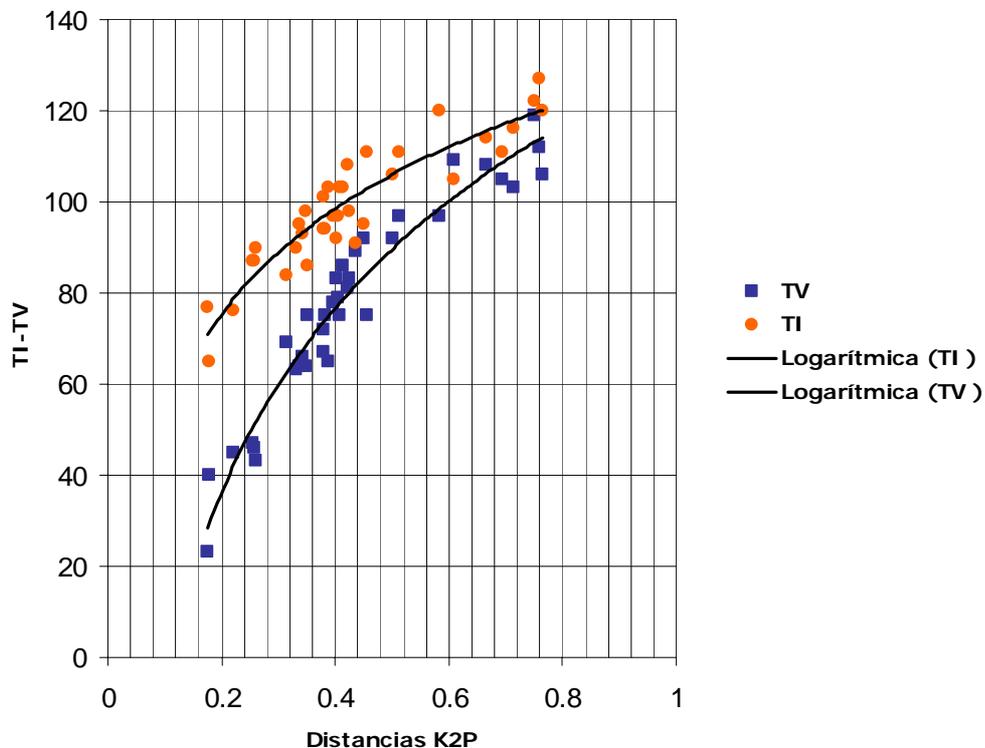


Figura 3. Gráfica de saturación de TI y TV para el gen ND1. Se representa el número bruto de transiciones y transversiones frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

Realicé la búsqueda exhaustiva, sin ningún peso a las transversiones, encontrando un único árbol más parsimonioso (Figura 4). El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de ocho. Consecuentemente, construí una matriz de costos para el análisis de parsimonia sopesada en la cual las transversiones tuvieron un costo ocho veces superior al de las transiciones. Cuando busqué bajo el criterio de parsimonia sopesada encontré la misma topología que en el caso anterior, aunque los valores de bootstrap fueron diferentes (Figura 5).

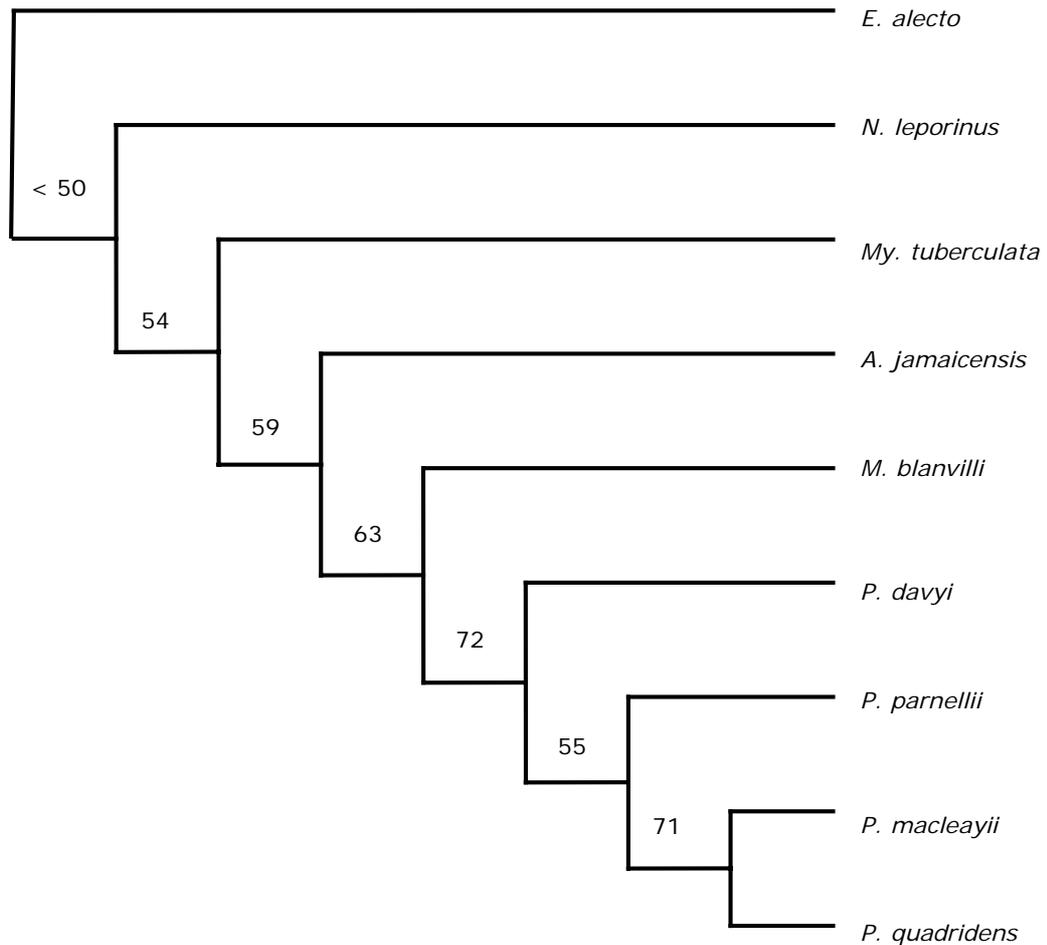


Figura 4. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda exhaustiva con datos del gen ND1. Expone las relaciones filogenéticas de cinco miembros de la familia Mormoopidae, incluyendo como grupo externo a miembros de las familias hermanas. Índice de consistencia (IC) = 0.6478, Índice de retención (IR) = 0.3205. Los valores de bootstrap se indican arriba de la línea que lleva a cada nodo interior (<50 indica que el nivel de soporte es inferior al 50%).

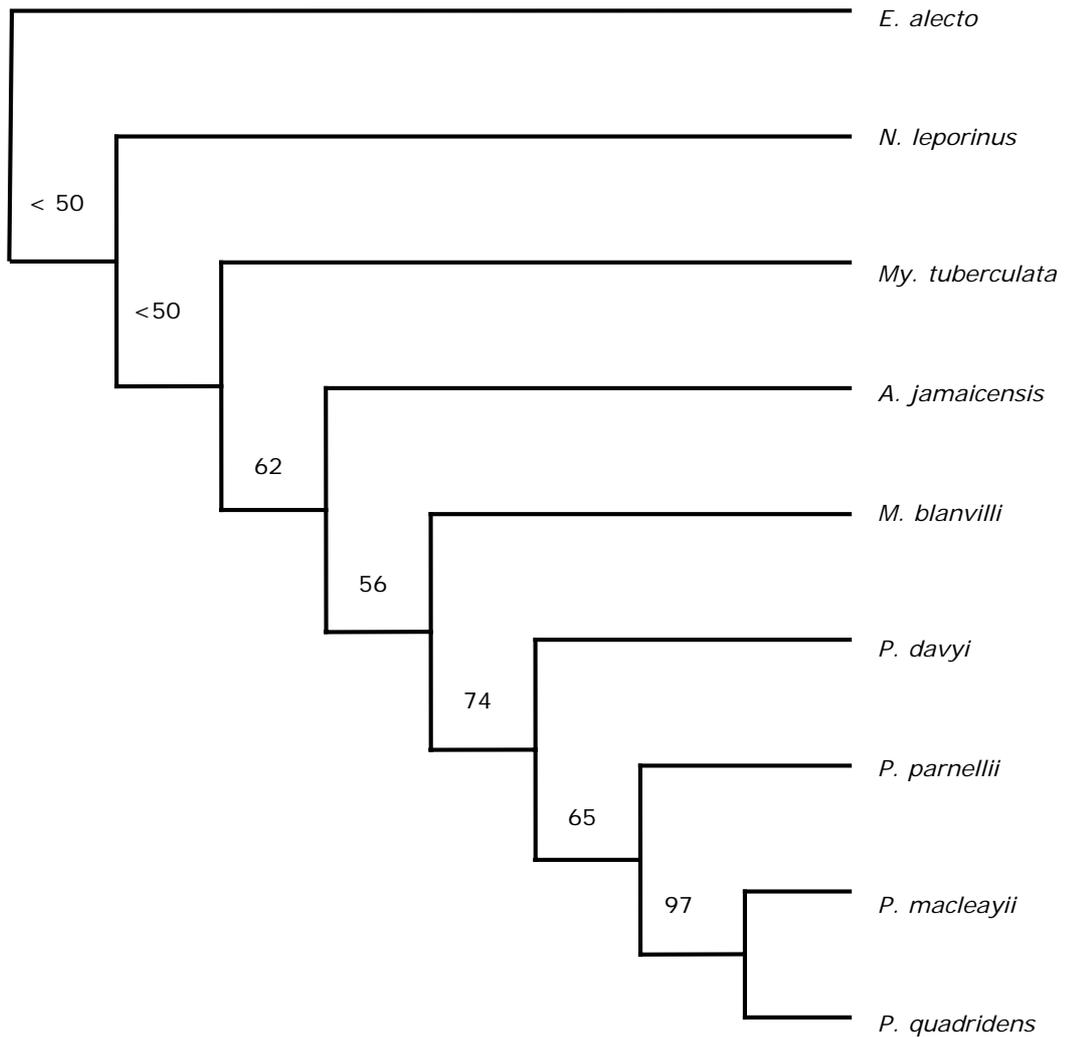


Figura 5. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda exhaustiva, bajo el criterio de parsimonia sopesada. Los taxones incluidos son los mismos de la figura 4. Índice de consistencia (IC) = 0.6128, Índice de retención (IR) = 0.3646. Los valores de bootstrap se indican arriba de la línea que lleva a cada nodo interior (<50 indica que el nivel de soporte es inferior al 50%).

Los miembros de la familia Mormoopidae aparecieron como monofiléticos con los análisis del gen ND1, si bien con un grado de soporte muy bajo, lo cual

pone en bajo nivel la confianza que podemos tener en estas hipótesis. El género *Pteronotus* también aparece como monofilético en ambas hipótesis, aunque también con un grado de soporte bajo (Figuras 4 y 5). Según la topología obtenida, el linaje de *Pteronotus davyi*, representante del subgénero *Pteronotus*, sería el hermano del ancestro común de los subgéneros *Phyllodia* y *Chilonycteris*, si bien de nuevo estas relaciones encuentran poco soporte en el análisis de bootstrap. El subgénero *Chilonycteris* aparece como monofilético, con un alto grado de soporte (97%) en la hipótesis generada bajo el criterio de parsimonia sopesada (fig 5). La topología obtenida es incongruente con las hipótesis presentadas por Smith (1972), Arnold *et al.* (1982), y con la más reciente basada en datos moleculares, de Van Den Bussche y Weyandt (2003), en las cuales el linaje de *Pteronotus parnelli* se presenta como hermano del ancestro común de todos los demás *Pteronotus*.

## ANÁLISIS CON EL GEN CITOCROMO *B*

Excluí de este análisis los taxones para los cuales no existía información de este gen (*T. tricolor* y *F. horrens*). En el caso de *S. bilineata* tan sólo se dispuso de una secuencia parcial (403 pb). El alineamiento de este gen para los restantes taxones examinados dió como resultado 1140 posiciones alineadas, de las cuales 142 fueron variables pero no informativas y 360 variables e informativas. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.547864$ ;  $P < 0.01$ ). En la gráfica de saturación de TV-TI para este gen no se observa saturación de la señal en ninguno de los dos tipos de sustituciones (Figura 6).

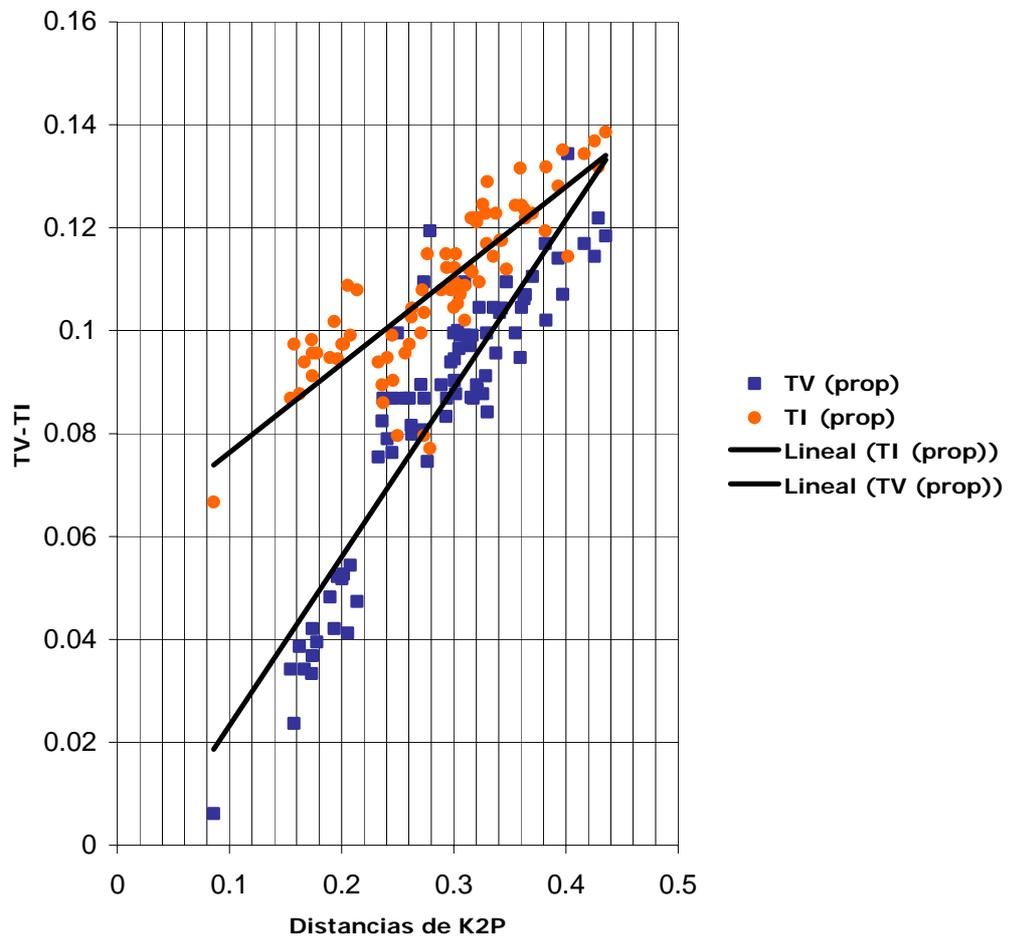


Figura 6. Gráfica de saturación de TI y TV para el gen Citocromo *b*. Se representa la proporción (tanto por uno) de transiciones y transversiones del total de nucleótidos comparados frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

La búsqueda heurística bajo el criterio de máxima parsimonia resultó en un único árbol más parsimonioso (Figura 7). El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de 13. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron 13 veces más que las transiciones. Cuando busqué bajo el criterio de parsimonia sopesada encontré una topología diferente al caso anterior, con valores de bootstrap diferentes (Figura 8).

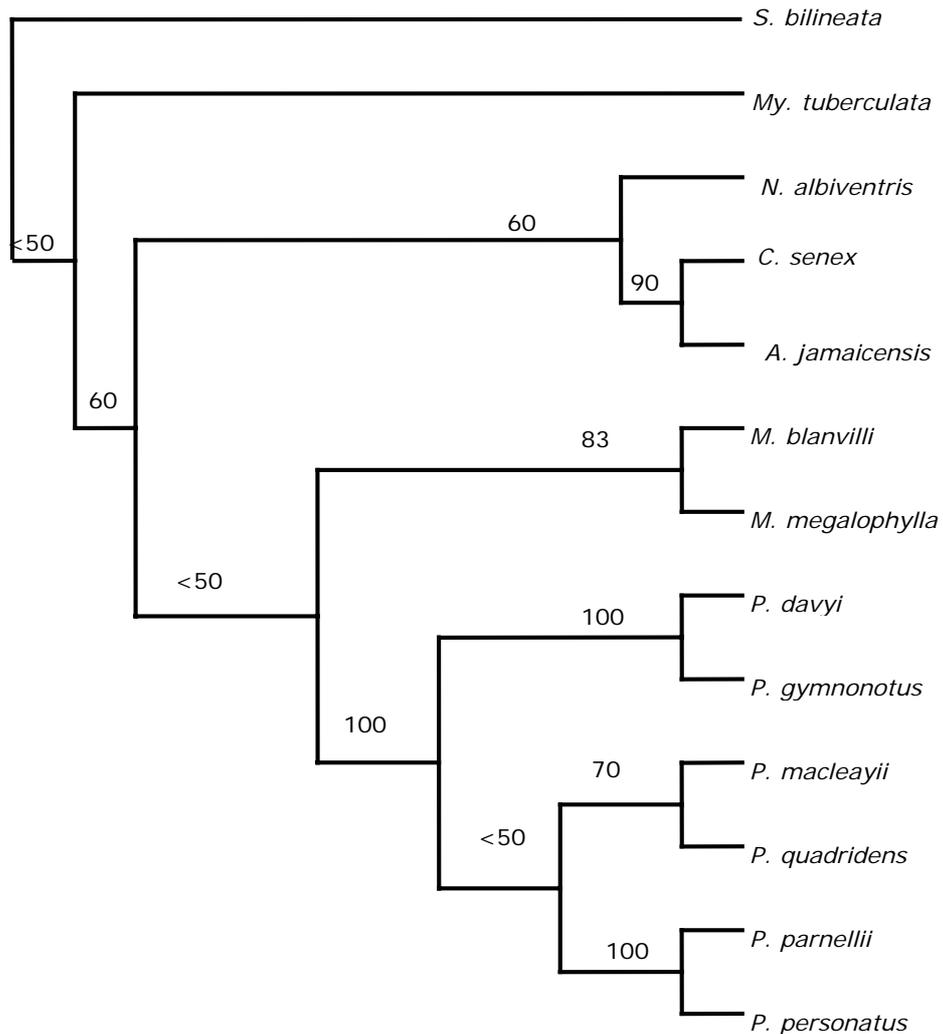


Figura 7. Árbol más parsimonioso obtenido con el criterio de máxima parsimonia con datos del gen *Citocromo b*. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.5621, IR=0.3772. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

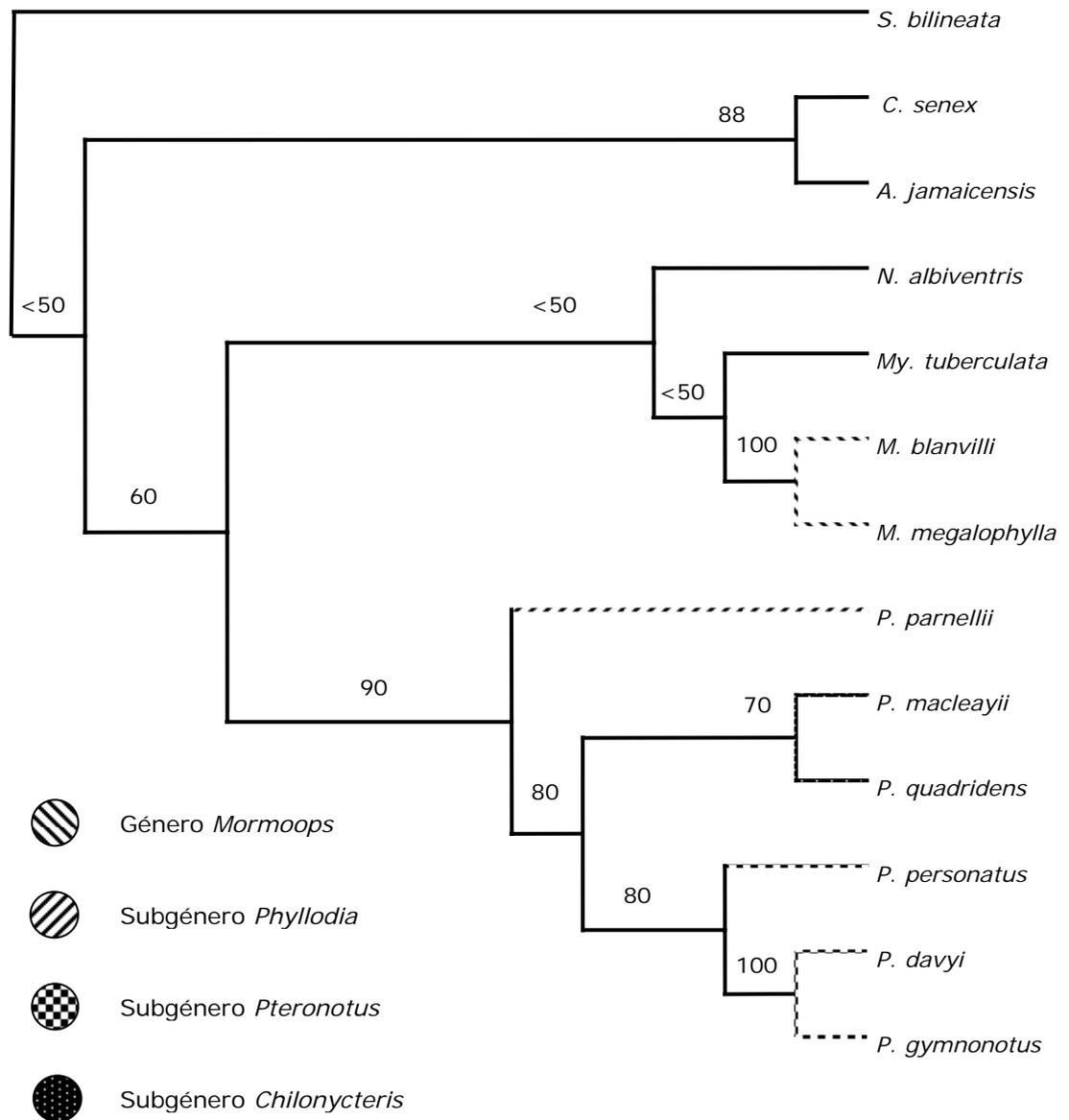


Figura 8. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, bajo el criterio de parsimonia sopesada con datos del gen *Citocromo b*. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC= 0.5532, IR= 0.4773. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El análisis bajo el criterio de máxima parsimonia recuperó la monofila de la familia con un valor de bootstrap bajo (50%). En esta hipótesis, el subgénero *Pteronotus* aparece como hermano del ancestro de los subgéneros *Chilonycteris* y *Phyllodia* (Figura 7), lo cual difiere a las hipótesis propuestas por Smith (1972),

Arnold *et al.* (1982), y con la más reciente basada en datos moleculares, de Van Den Bussche y Weyandt (2003). En éstas, el linaje de *Pteronotus parnelli* se presenta como hermano del ancestro común de los subgéneros *Pteronotus* y *Chilonycteris*. Con el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada, no se pudo resolver la posición del género *Mormoops* con respecto a los Mistacínidos, Noctiliónidos, y el género *Pteronotus* (en el árbol más corto aparece como hermano de *Mystacina*, y asociado a los Noctiliónidos, pero no hay soporte bootstrap para esta relación). En este análisis, el subgénero *Phyllodia* aparece como hermano del ancestro de los demás *Pteronotus*, mientras que *P. personatus* aparece como hermano del ancestro de las dos especies del subgénero *Pteronotus* con valores altos de bootstrap (> a 80%, figura 8). Esta topología presenta el subgénero *Chilonycteris* como parafilético, igualando la hipótesis filogenética propuesta por Smith (1972) para el género *Pteronotus*.

## ANÁLISIS CON EL GEN RAG 2

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones considerados. En el caso de *Artibeus jamaicensis* tan sólo se contó con una secuencia parcial (444 pb). El alineamiento de este gen para los taxones examinados dió como resultado 1413 posiciones alineadas, de las cuales 199 fueron variables pero no informativas, y 135 informativas. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.610523$ ;  $P < 0.01$ ). La gráfica de saturación de TV-TI no permite observar que haya saturación en ninguno de los dos tipos de sustituciones (Figura 9).

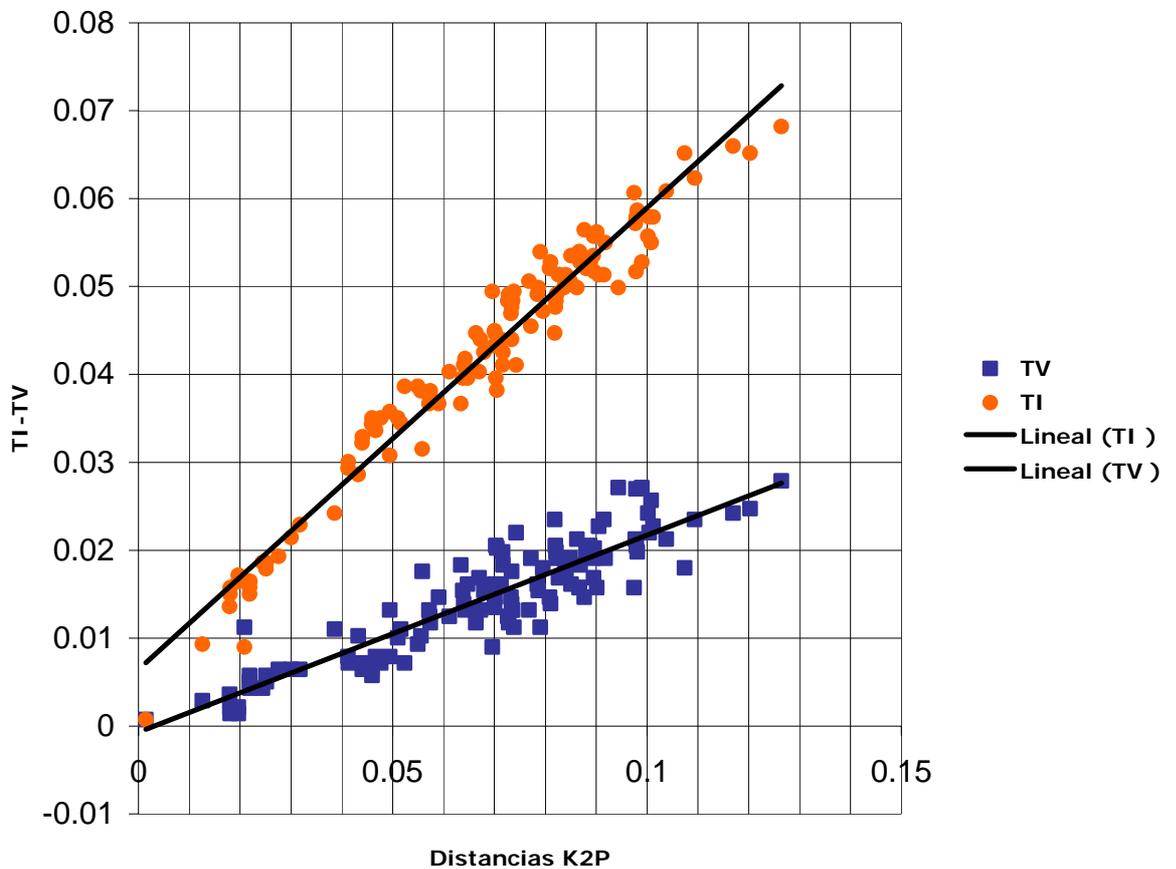


Figura 9. Gráfica de saturación para el gen RAG 2. Se representa la proporción de transiciones y tranversiones del total de nucleótidos en cada comparación de pares, frente a la distancia genética de Kimura (1980) correspondiente.

Realicé la búsqueda heurística, sin ningún peso a las tranversiones, encontrando seis árboles igualmente parsimoniosos, cuyo árbol consenso se muestra en la figura 10. El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el

modelo de evolución HKY85 de uno de los árboles anteriores, fue de seis. Consecuentemente, las transversiones costaron seis veces más que las transiciones en la matriz de costos para el análisis de parsimonia sopesada. Cuando busqué bajo el criterio de parsimonia sopesada encontré un solo árbol más parsimonioso (Figura 11).

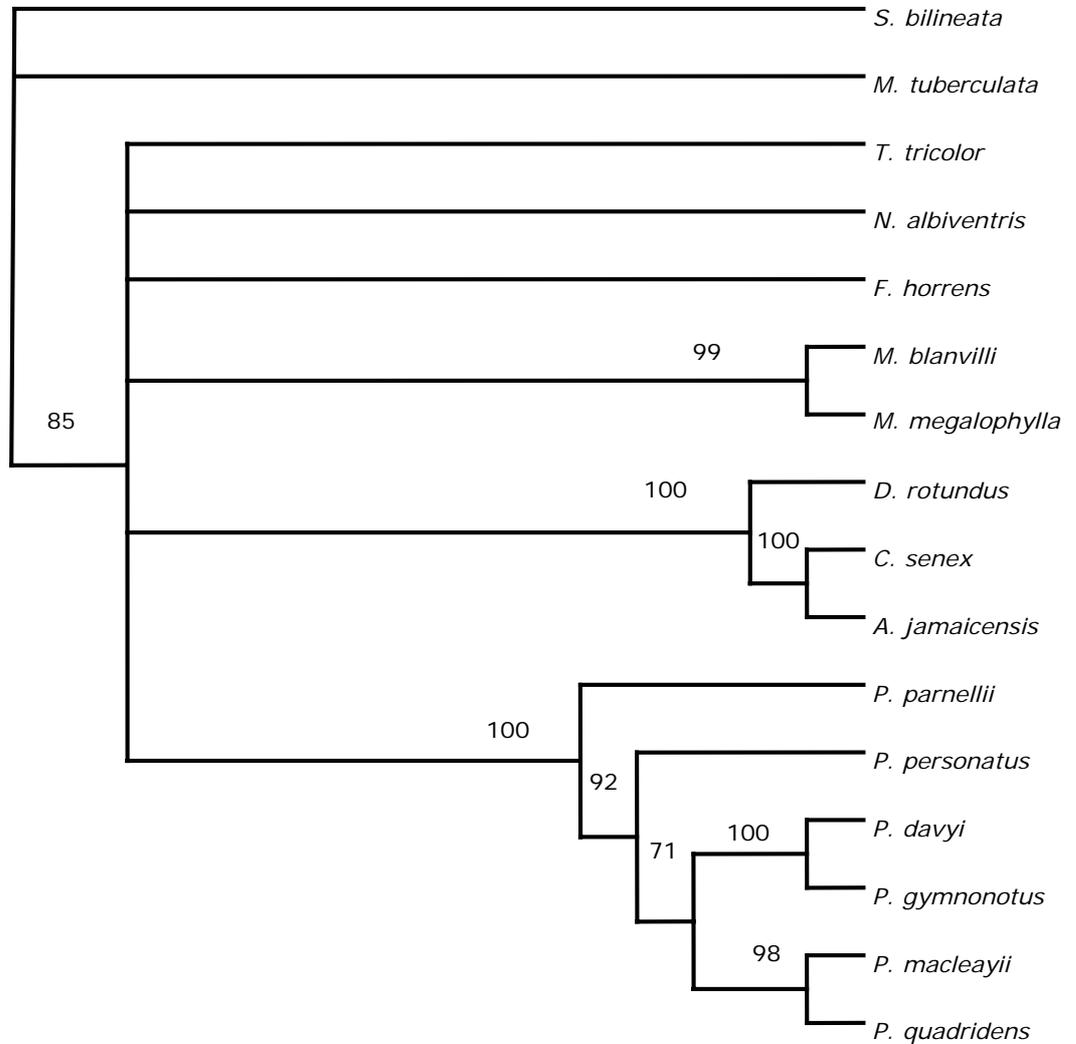


Figura 10. Consenso estricto de los seis árboles más parsimoniosos obtenidos mediante una búsqueda heurística con un criterio de máxima parsimonia, sobre datos del gen RAG 2. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC= 0.7899, IR= 0.6933. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

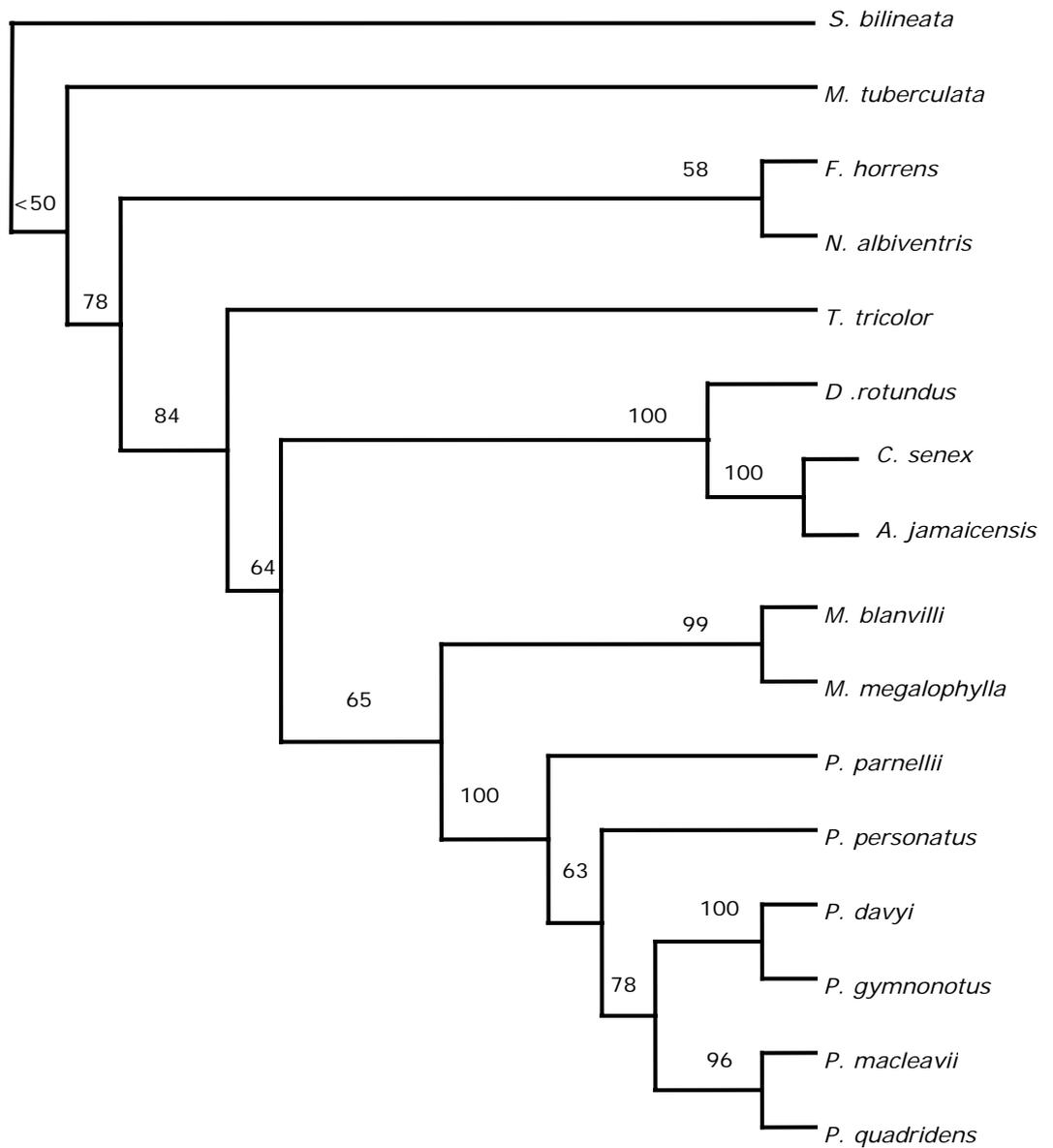


Figura 11. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, con un criterio de parsimonia sopesada, sobre datos del gen RAG 2. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.8701, IR=0.7617. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

En el análisis con el gen RAG 2 bajo el criterio de máxima parsimonia, la monofilia de la familia Mormoopidae no apareció resuelta, quedando los géneros *Mormoops* y *Pteronotus* en una politomía junto con *Thyroptera*, *Furipterus*, y *Noctilio*. El análisis sí resolvió la monofilia de los géneros, y las relaciones entre especies, con un buen grado de soporte. El análisis con parsimonia sopesada resolvió la monofilia de la familia, aunque con un nivel de soporte bajo, y mantuvo la misma estructura interna. El linaje de *Pteronotus parnelli* se presentó como hermano del ancestro común de todos los demás *Pteronotus*, mientras que el linaje de *Pteronotus personatus* se separa del siguiente nodo más distal. El subgénero *Pteronotus*, y el resto del subgénero *Chilonycteris* quedan como recíprocamente monofiléticos en la corona distal (Figura 10). Esta topología es idéntica a la obtenida por Lewis-Oritt *et al.* (2001) con un conjunto mayor de secuencias del gen RAG 2.

## ANÁLISIS CON LOS GENES RIBOSOMALES 12s, 16s y ARNt<sup>Val</sup>

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones. Como ya había mencionado en la sección de métodos, el análisis de este grupo de genes lo hice de dos formas. Hice un análisis incluyendo los sitios no alineables, y otro, excluyéndolos, de tal forma que se pudiera comparar la información aportada en ambos casos. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.736787$ ,  $P < 0.01$ , con los sitios no alineables,  $g_1 = -0.785671$ ,  $P < 0.01$ , sin los sitios no alineables). La gráfica de saturación de TV-TI para este gen permite observar un importante grado de saturación a distancias genéticas grandes, especialmente notable en las transversiones (Figura 12).

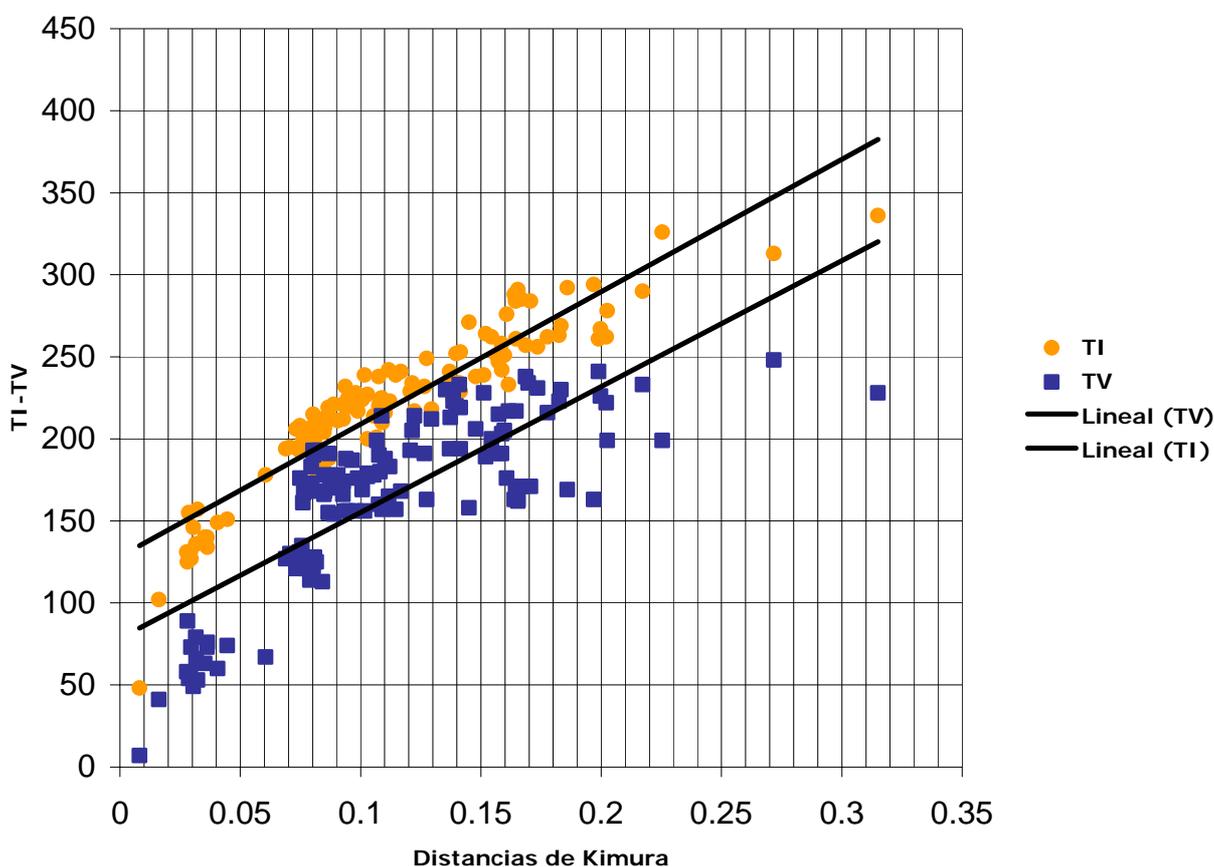


Figura 12. Gráfica de saturación para los genes 12s, 16s y ARNt<sup>Val</sup>. Se representa el número bruto de transiciones y transversiones frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

1. Búsqueda incluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales 12s, 16s y ARNt<sup>Val</sup>

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones. El alineamiento de estos genes para los taxones examinados dio como resultado 2719 posiciones alineadas, de las cuales 354 fueron variables pero no informativas y 788 variables e informativas. Al realizar la búsqueda heurística, con el criterio de máxima parsimonia, obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 13). El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de siete. Consecuentemente, a las transversiones les asigné un costo siete veces mayor que a las transiciones, en la matriz de costos para el análisis de parsimonia sopesada. Cuando busqué bajo este criterio de parsimonia sopesada, encontré una topología diferente al caso anterior (Figura 14).

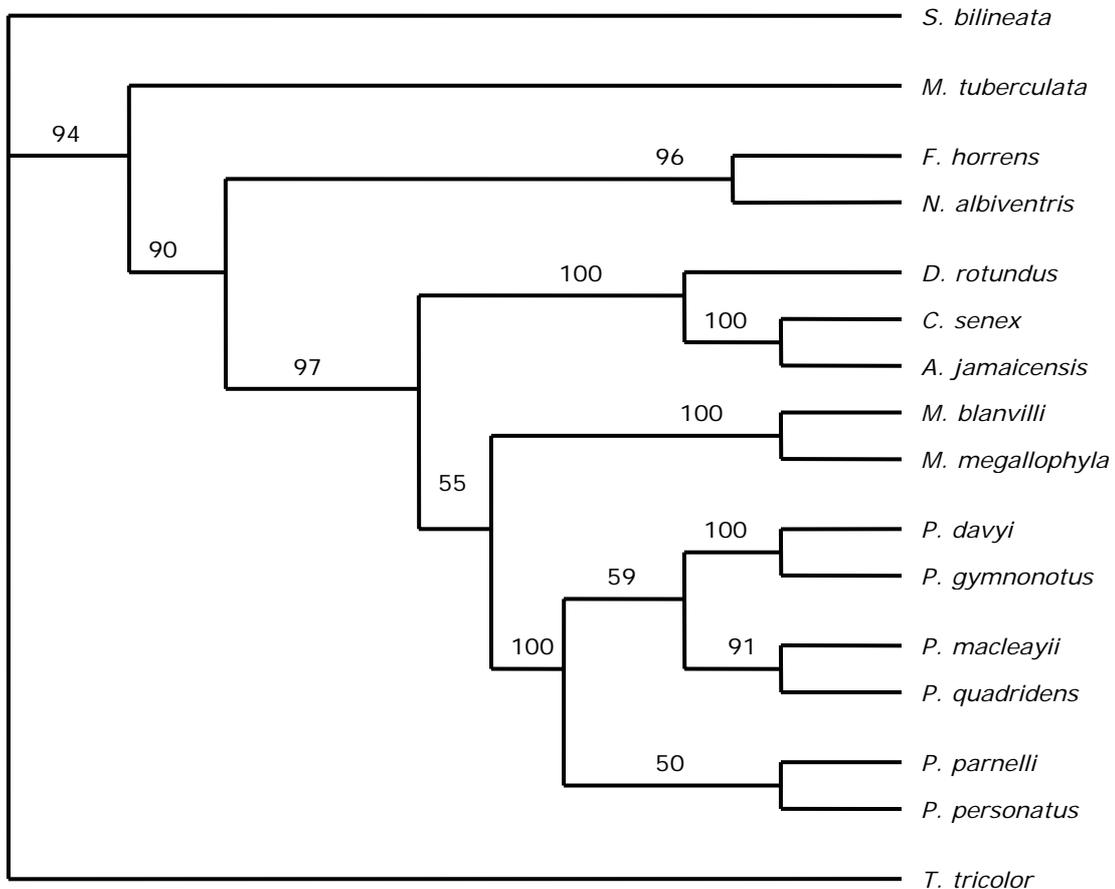


Figura 13. Único árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, con el criterio de máxima parsimonia, sobre los datos de los genes ribosomales. Muestra las relaciones filogenéticas de los Mormópidos usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.5494, IR=0.4347. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

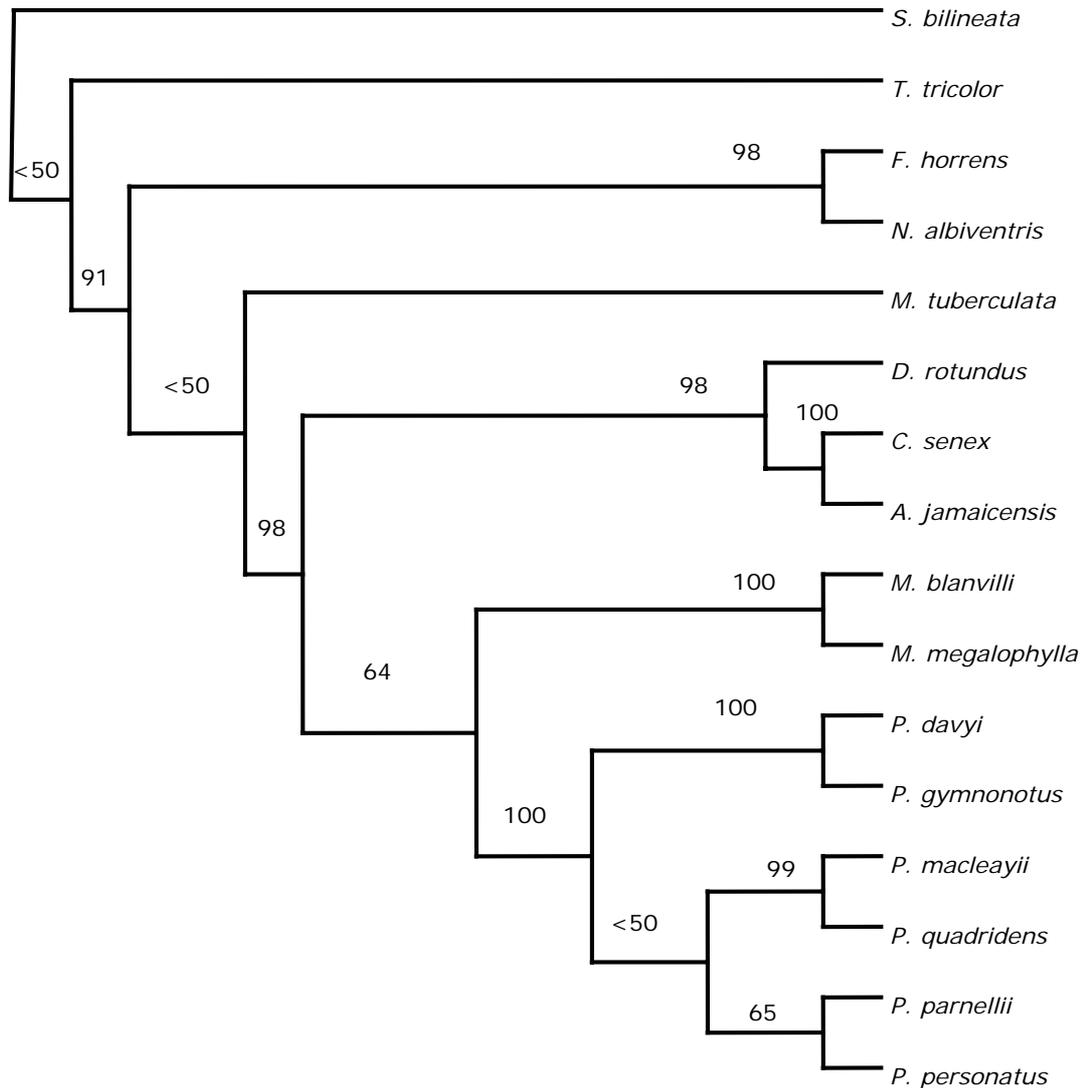


Figura 14. Único árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, el criterio de parsimonia sopesada por transversiones, sobre los datos de los genes ribosomales. En él se muestran las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae, usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC= 0.5352, IR= 0.4891. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

En el análisis con los genes ribosomales incluyendo los sitios no alineables bajo el criterio de máxima parsimonia, la familia Mormoopidae apareció como

monofilética, pero con un grado de soporte muy bajo en el nodo que agrupaba a los géneros *Mormoops* y *Pteronotus* (55%). *Pteronotus parnelli* (*Phyllodia*) se presentó como especie hermana de *Pteronotus personatus* (*Pteronotus*), pero con un valor bootstrap tan bajo (50%), que la relación debe considerarse sin resolver. Los demás miembros del género aparecieron en un grupo monofilético, pero con un nivel de soporte demasiado bajo como para confiar en esta relación (Figura 13). Dado que la falta de resolución a varios niveles tan sólo deja establecidas la monofilia de los géneros *Mormoops* y *Pteronotus*, así como la del subgénero *Pteronotus* y la hermandad de *P. quadridens* y *P. macleayii*, la hipótesis resultante es compatible con las de Smith (1972), Arnold *et al.* (1982), y Van Den Bussche y Weyandt (2003). El análisis incluyendo los sitios no alineables con el criterio de parsimonia sopesada recuperó la monofilia de los Mormópidos, pero con un valor de bootstrap bajo (64%, figura 14). Si reducimos a politomías los nodos no resueltos (bootstrap <50%), la topología del género *Pteronotus* fue muy similar a la mostrada en el análisis con el criterio de máxima parsimonia, con la excepción de la asociación de *P. personatus* y *P. parnelli* en un linaje, aunque con un grado de soporte bajo. La hermandad entre estas dos especies no aparece en ninguno de los trabajos anteriores.

2. Búsqueda excluyendo sitios no alineables de los genes ribosomales 12s, 16s y ARNt<sup>val</sup>

El alineamiento de estos genes para los taxones examinados dió como resultado 1942 posiciones alineadas, de las cuales 212 fueron variables no informativas y 286 variables e informativas. Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia, obtuve cuatro árboles igualmente parsimoniosos. El consenso estricto de esos cuatro árboles está en la figura 15.

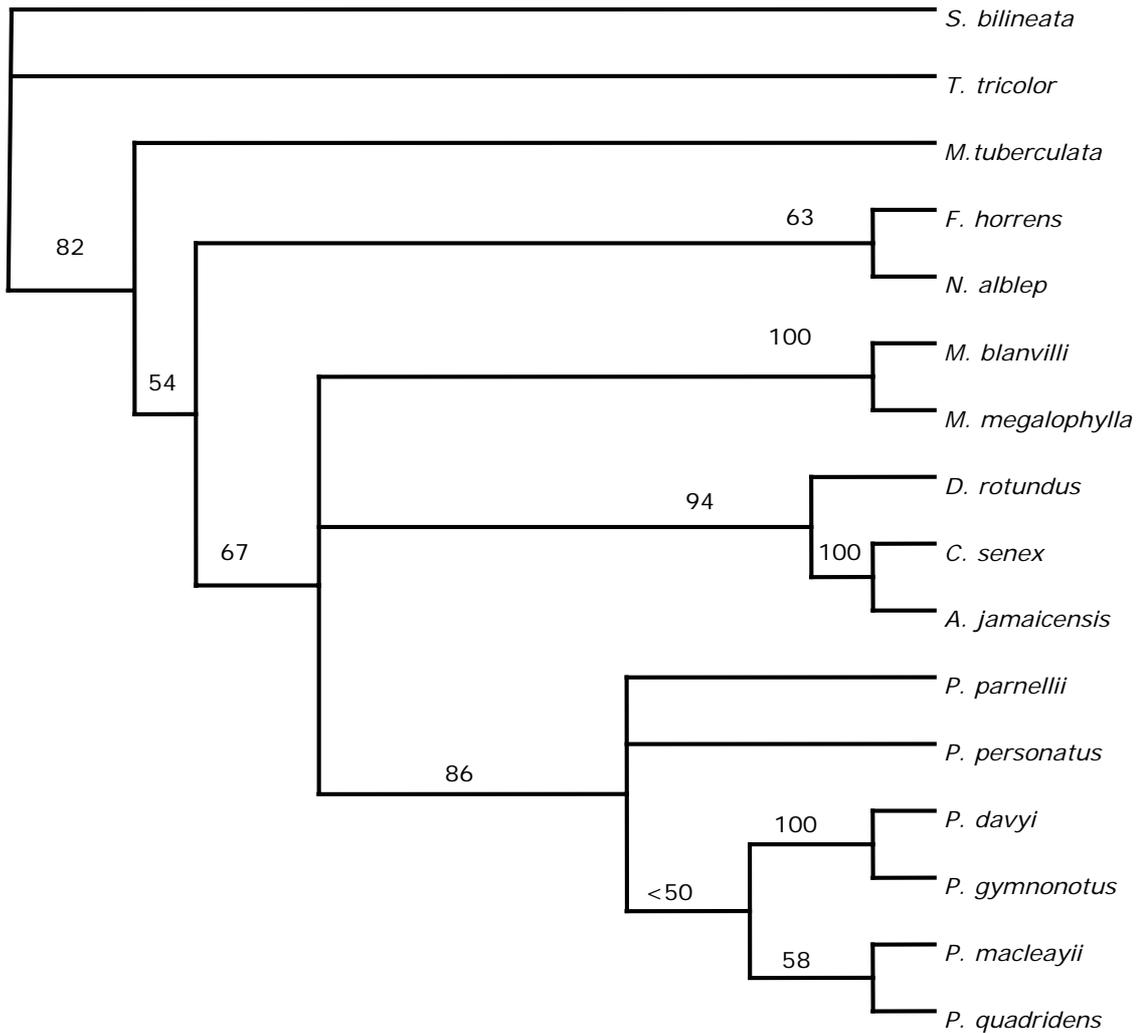


Figura 15. Consenso estricto de los cuatro árboles más parsimoniosos obtenidos mediante una búsqueda heurística por el criterio de máxima parsimonia, sobre los datos de los genes ribosomales eliminando las posiciones no alineables. Muestra las relaciones filogenéticas de los Mormópidos usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.5494, IR=0.4347. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el modelo de evolución HKY85 de uno de los árboles anteriores, fue de 12. Consecuentemente, a las transversiones les asigné un costo 12 veces mayor que a las transiciones en la matriz de costos para el análisis de parsimonia sopesada. Cuando busqué bajo este criterio de parsimonia sopesada, encontré dos árboles igualmente parsimoniosos el consenso estricto de esos dos árboles está en la figura 16.

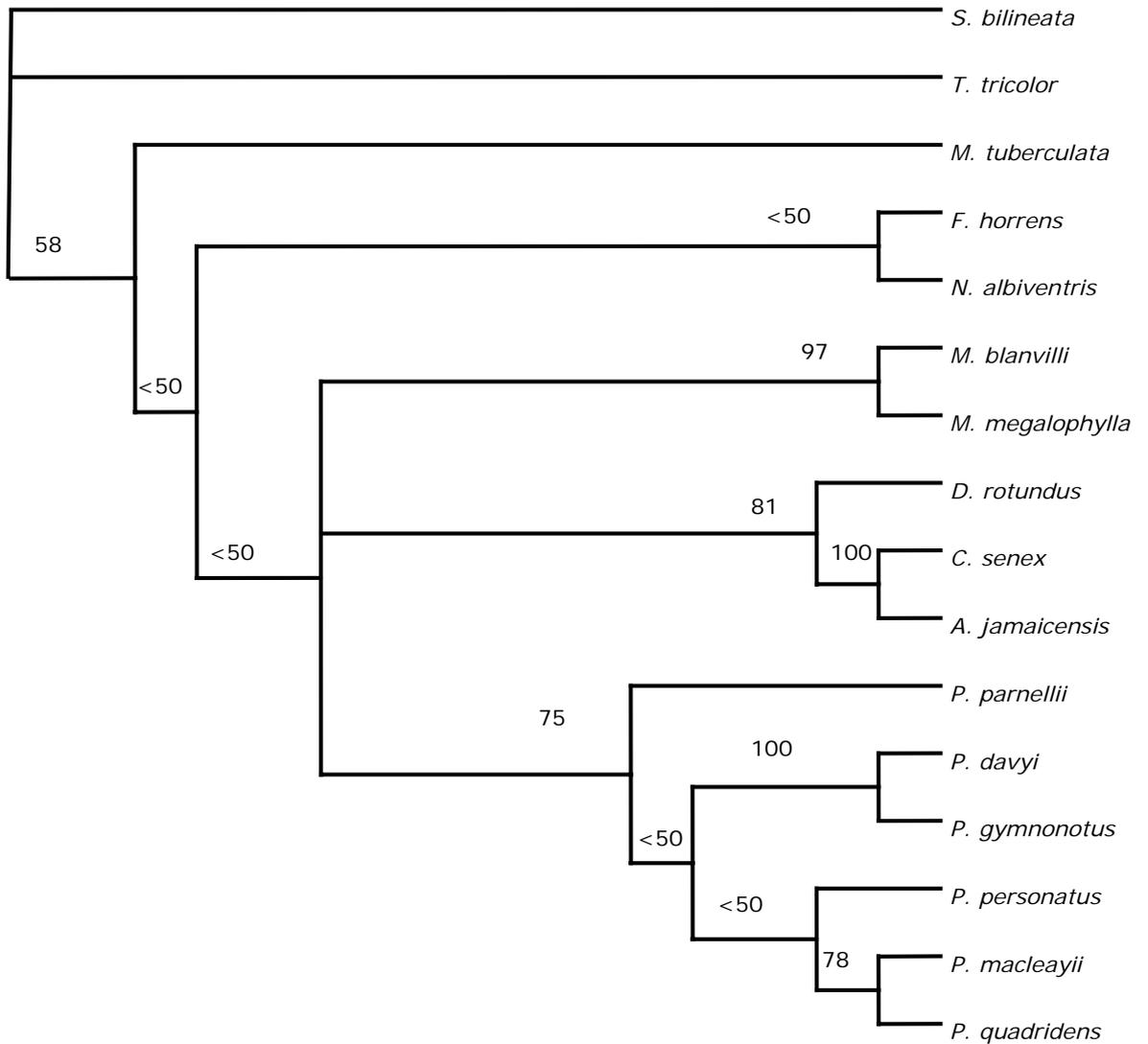


Figura 16. Consenso estricto de los dos árboles más parsimoniosos obtenidos por criterio de parsimonia sopesada por transversiones. En él se muestran las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. Con datos de los genes ribosomales. IC= 0.6403, IR= 0.4970. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

En el análisis con los genes ribosomales excluyendo los sitios no alineables, y bajo los criterios de máxima parsimonia y parsimonia sopesada, no pudo resolverse la monofilia de los Mormópidos. Los linajes del género *Mormoops*, del

género *Pteronotus*, y de la familia Phyllostomidae aparecieron en una tricotomía no resuelta. Ambos análisis recuperaron la monofilia del género *Pteronotus*, aunque en el caso del análisis sopesado, el soporte del linaje es relativamente bajo. Dentro del género *Pteronotus*, ambos análisis recuperaron con alto grado de soporte el linaje del subgénero *Pteronotus*. Sin embargo, todas las demás relaciones aparecieron no resueltas (bootstrap <50%), a excepción de la hermandad de *P. macleayii* con *P. quadridens*, la cual se recuperó con bajo índice de soporte en el caso del análisis de máxima parsimonia, y relativamente bajo en el caso de la parsimonia sopesada. El idéntico arreglo resultante, cuando se reducen las relaciones no resueltas a politomías, es compatible con las propuestas de Smith (1972), Arnold *et al.* (1982), y Van Den Bussche y Weyandt (2003).

## ANÁLISIS COMBINADOS

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones, aunque para algunos ésta fue obviamente parcial. Como ya había mencionado en la sección de métodos, el análisis con todos los genes combinados lo hice de dos formas. Una incluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales (ARNs) y otro excluyéndolos, de tal forma que se pudiera comparar la información aportada en ambos casos. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.613967$  con los sitios no alineables y de  $-0.523474$  sin los sitios no alineables;  $P < 0.01$ ). En la gráfica de saturación de TV-TI para los genes combinados se aprecia un cierto grado de saturación en las transversiones, que no aparece de forma evidente en las transiciones (Figura 17).

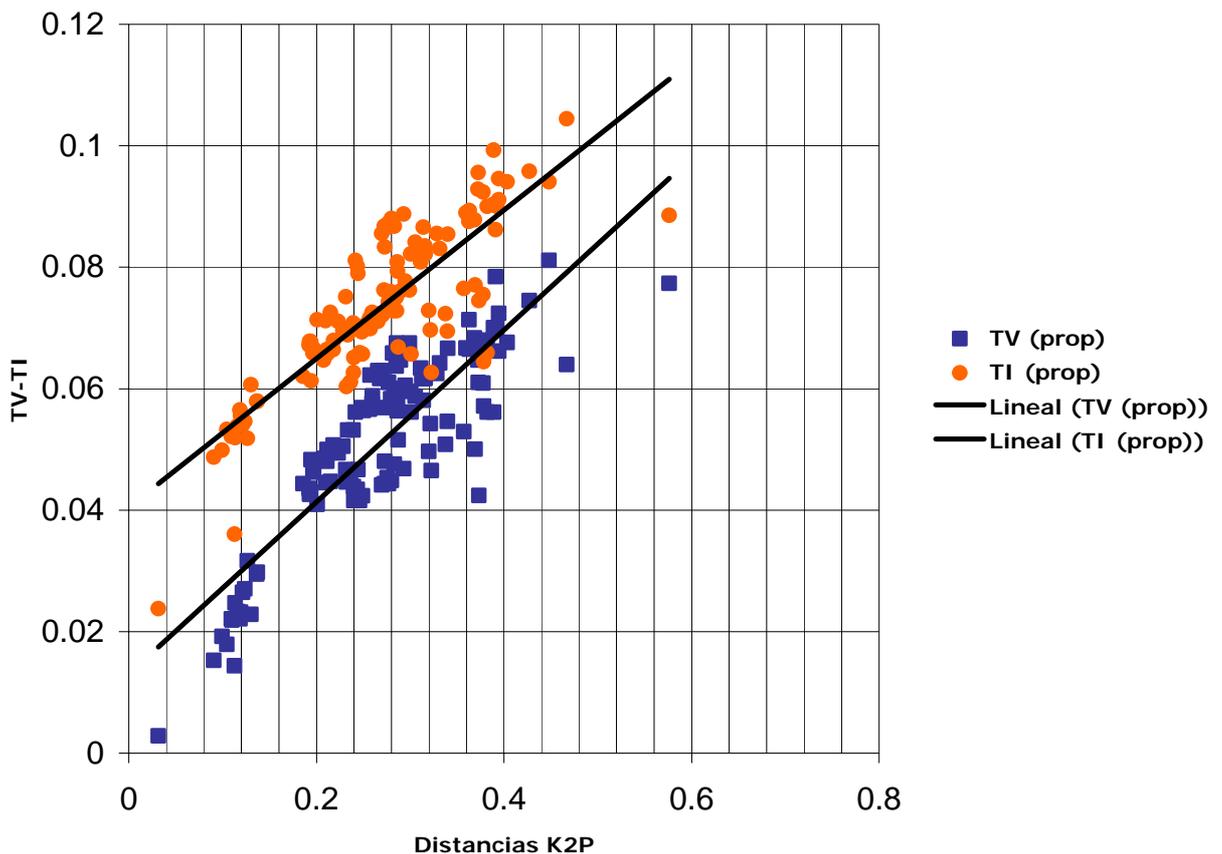


Figura 17. Gráfica de saturación de TV-TI para todos los genes combinados. Se representa la proporción (tanto por uno) de transiciones y transversiones del total de nucleótidos comparados frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

## 1. Búsqueda incluyendo los sitios no alineables de los genes 12s, 16s y ARNt<sup>val</sup>

El alineamiento de todo el conjunto de genes dio como resultado 6217 caracteres en total. De los cuales 3820 fueron constantes, 860 variables pero no informativos, y 1537 fueron variables e informativos. Realicé la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia, obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 18). El valor del parámetro kappa que obtuve ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de siete. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron siete veces más que las transiciones. La topología arrojada por parsimonia sopesada se puede observar en la figura 19.

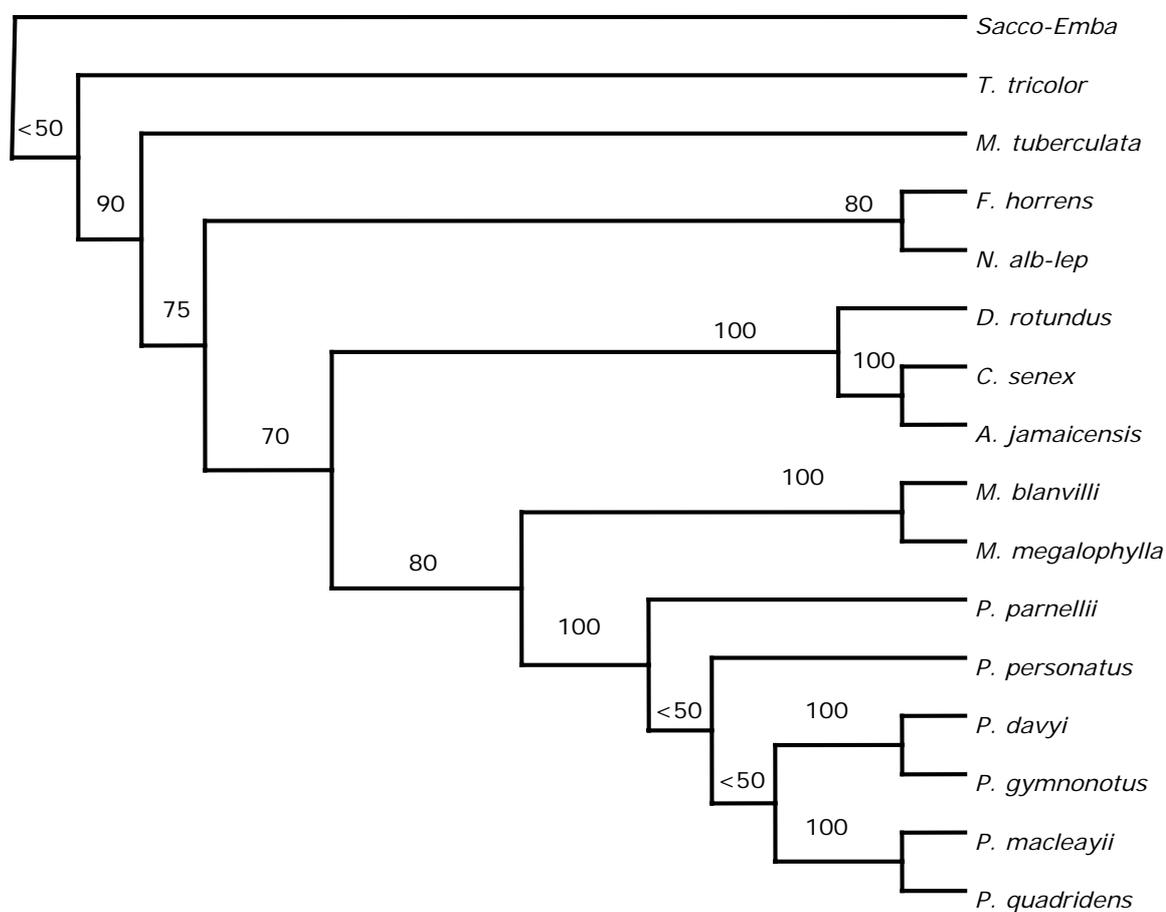


Figura 18. Árbol más parsimonioso obtenido con el criterio de máxima parsimonia, con los genes combinados, incluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.5827, IR= 0.4195. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

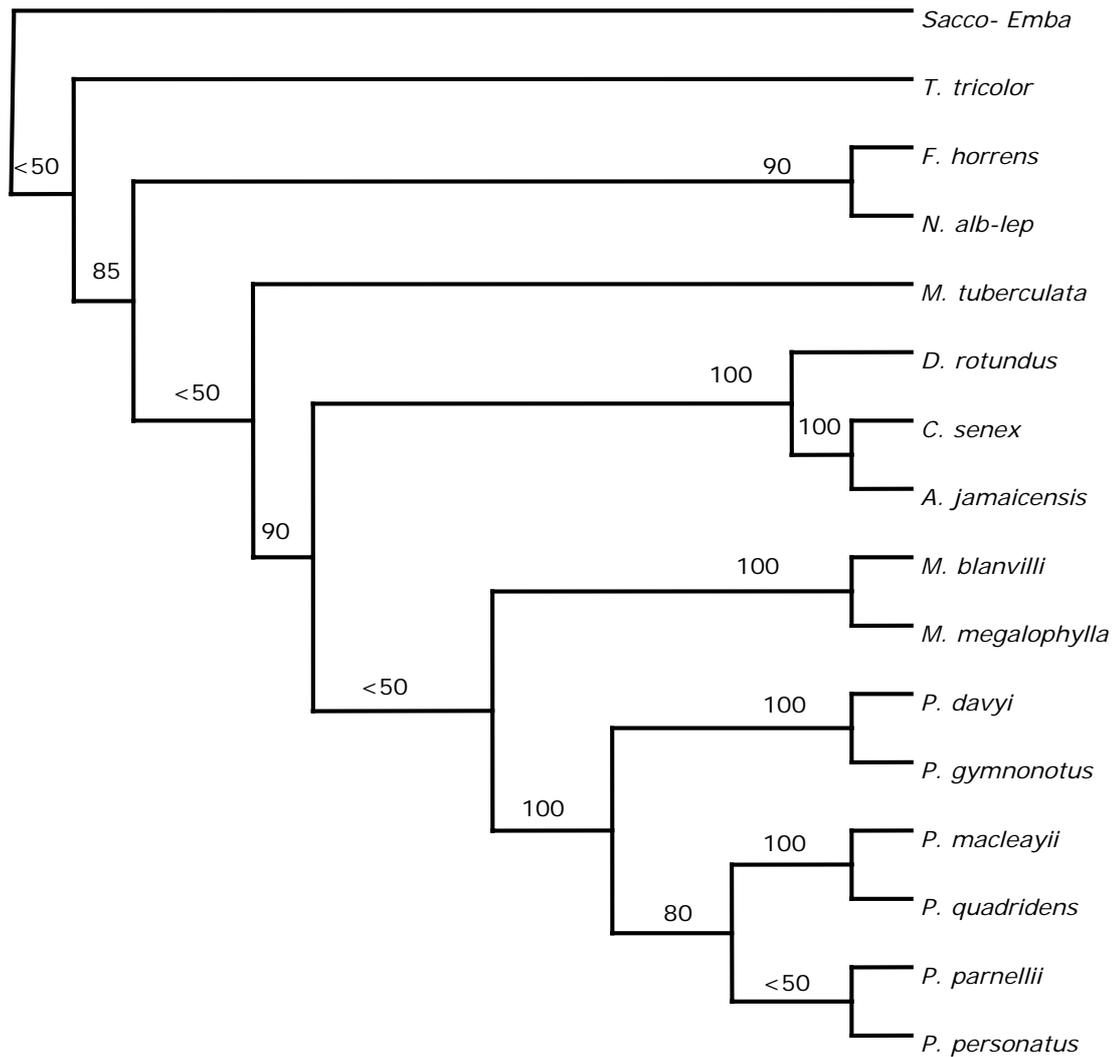


Figura 19. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, bajo el criterio de parsimonia sopesada. Los datos corresponden a los genes combinados, incluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias. IC=0.5707, IR= 0.4722. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

La familia Mormoopidae apareció como monofilética en los árboles más cortos obtenidos en los análisis bajo ambos criterios de parsimonia. El grado de soporte fue 80% de bootstrap en el análisis de máxima parsimonia. El arreglo interno de los géneros y subgéneros fue similar a la hipótesis propuesta por Van Den Bussche *et al.* (2003) con datos moleculares. El género *Pteronotus* apareció como monofilético, siendo el linaje de *P. parnelli* (100% de bootstrap) hermano del ancestro común de las demás especies del género *Pteronotus*. *P. personatus* apareció como especie hermana del ancestro de las demás especies del subgénero *Pteronotus* (*P. davyi* y *P. gymnonotus*) y de las especies del subgénero *Chilonycteris* (*P. macleayii* y *P. quadridens*), pero con valores bootstrap bajos 50%. Los nodos que agruparon a las especies de los subgénero *Pteronotus* (las dos restantes) y *Chilonycteris* tuvieron grados de soporte altos (100% bootstrap). Cuando hice el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada la monofilia de los Mormópidos se recuperó, pero con un grado de confianza bajo (50% de bootstrap). La topología del género *Pteronotus* no coincidió con la obtenida en el análisis anterior o con alguna reportada antes por otros autores. En esta topología el subgénero *Pteronotus* apareció como el grupo hermano del ancestro de los demás *Pteronotus*, mientras que el subgénero *Chilonycteris* y *Phyllodia* resultaron como grupos hermanos, compartiendo el mismo ancestro. Como en el caso anterior, *P. personatus* quedó fuera del subgénero *Chilonycteris*, en el cual lo habían incluido en otras hipótesis (Lewis-Oritt *et al.*, 2001), aunque en este caso apareció como especie hermana de *P. parnelli*, pero con valores bootstrap por debajo de 50%.

## 2. Búsqueda excluyendo los sitios no alineables de los genes 12s, 16s y ARNt<sup>val</sup>

Excluí los sitios que no cumplían con la asunción de homología, por lo que la matriz de datos alineados se redujo a 5440 caracteres, de los cuales 3687 fueron constantes, 718 variables no informativos y 1035 variables e informativos. Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia obtuve un único árbol más parsimonioso (figura 20).

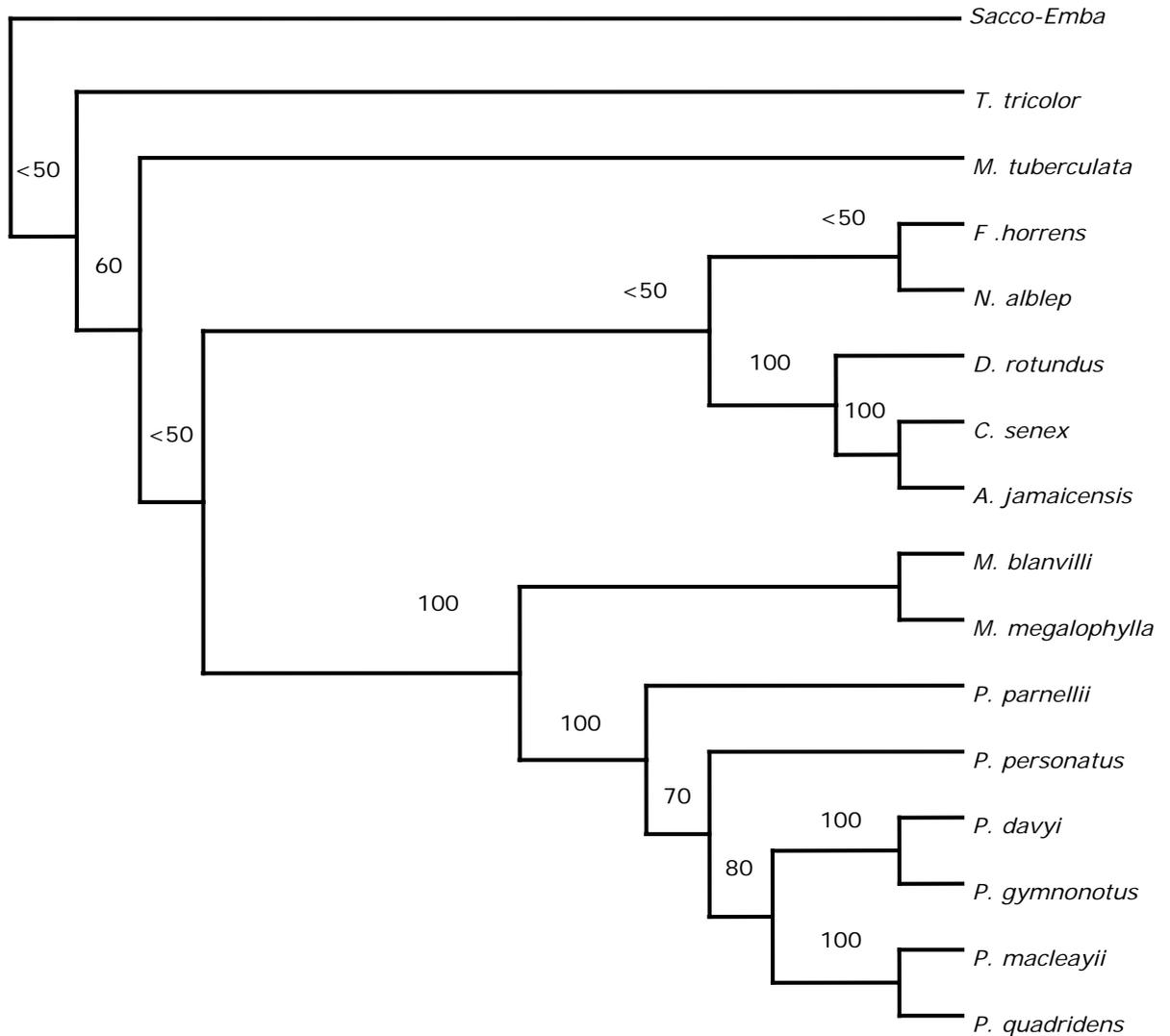


Figura 20. Árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística, con el criterio de máxima parsimonia. Los datos corresponden a todos los genes combinados, excluyendo los sitios no alineables del los genes ribosomales. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas con datos de los genes mitocondriales y RAG 2. IC= 0.6116, IR= 0.4155. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que se obtuvo ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de siete. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron siete veces más que las transiciones. Al hacer el análisis sopesando las transversiones obtuve un solo árbol más parsimonioso (Figura 21).

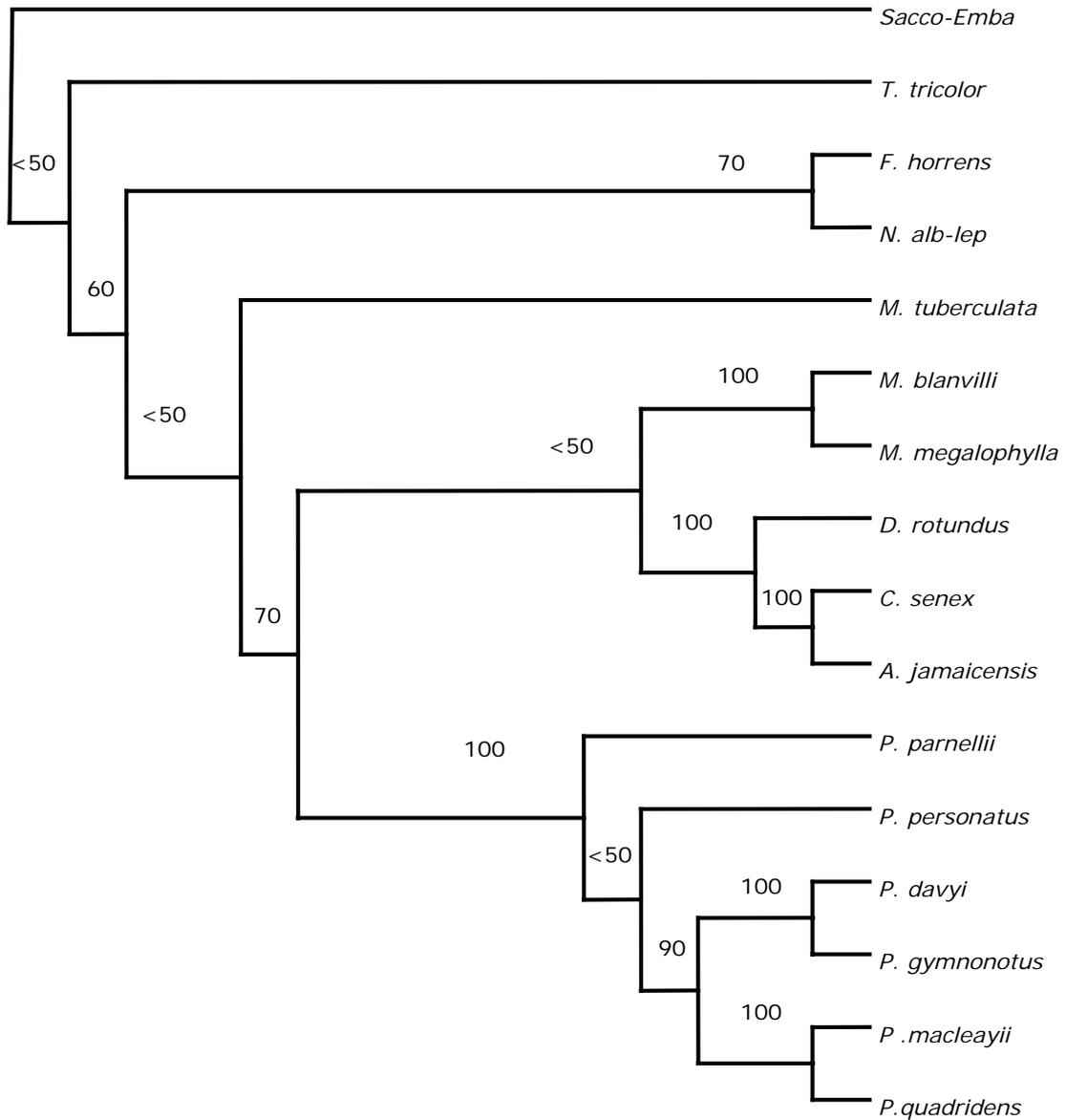


Figura 21. Único árbol más parsimonioso obtenido mediante una búsqueda heurística bajo el criterio de parsimonia sopesada. Los datos corresponden a todos los genes combinados, excluyendo los sitios no alineables de los genes ribosomales. Muestra las relaciones filogenéticas de los miembros de la familia Mormoopidae usando como grupo externo a miembros de las familias hermanas. IC=0.6172, IR= 0.4559. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

Al excluir los sitios no alineables de los genes ribosomales del análisis bajo el criterio de máxima parsimonia, se recuperó la monofilia de la familia Mormoopidae

con buen soporte. La topología interna de los Mormópidos fue similar a la reportada por Van Den Bussche *et al.* (2003), donde el subgénero *Phyllodia* es el subgénero hermano del ancestro de todas las demás especies de *Pteronotus* (bootstrap 100%). *Pteronotus personatus* apareció como especie hermana del ancestro del subgénero *Pteronotus* (*P. davyi* + *P. gymnonotus*) y del resto de *Chilonycteris* (*P. macleayii* + *P. quadridens*). Estos dos últimos grupos resultaron recíprocamente monofiléticos, con valores de bootstrap máximos. Cuando hice el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada la monofilia de los Mormópidos no se recuperó. El género *Mormoops* apareció como parafilético compartiendo el mismo ancestro junto a los Filostómidos, aunque el bajísimo grado de soporte de este nodo (valores bootstrap de 50%) indica que el análisis no puede resolver las relaciones entre *Mormoops*, *Pteronotus*, y Phyllostomidae. El arreglo interno del género *Pteronotus* fue idéntico bajo el criterio de máxima parsimonia y parsimonia sopesada. Los valores bootstrap del nodo que agrupó a *P. personatus* como especie hermana del ancestro de los subgéneros *Pteronotus* (*P. davyi* y *P. gymnonotus*) y *Chilonycteris* (*P. macleayii* + *P. quadridens*), se redujo por debajo del 50% en el caso de la parsimonia sopesada, indicando que el análisis no podía resolver las relaciones entre *P. parnelli*, *P. personatus*, y el ancestro común de todos los demás *Pteronotus*.

## SÍNTESIS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS INTRAFAMILIARES

A continuación agrego un cuadro, a manera de resumen de esta sección. En ella se muestran los clados más recuperados para miembros de la familia Mormoopidae, con cada uno de los genes analizados. Además de los respectivos valores bootstrap para cada uno de los clados recuperados (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores bootstrap de los clados recuperados con frecuencia para la familia Mormoopidae.

CLADO	ND1 MP	ND 1 PS	CITB MP	CIT B PS	RAG2 MP	RAG2 PS	ARNs MP	ARNs PS	ARNs A MP	ARNs A PS	COMB COMP MP	COMB COMP PS	COMBA MP	COMB A PS
<i>Mormoops + Pteronotus</i>	63	56	<50	NA	NA	65	55	64	NA	NA	80	<50	100	NA
<i>Mormoops megalophylla + M. blanvilli</i>	NA	NA	83	100	99	99	100	100	100	97	100	100	100	100
<i>Pteronotus</i>	72	74	100	90	100	100	100	100	86	75	100	100	100	100
<i>P. personatus + P. macleayii + P. quadridens + Pteronotus davyi + P. gymnonotus</i>	NA	NA	NA	80	92	63	NA	NA	NA	<50	<50	NA	70	<50
<i>Pteronotus davyi + P. gymnonotus + P. macleayii + P. quadridens</i>	NA	NA	NA	NA	71	78	59	<50	<50	NA	<50	NA	80	90
<i>Pteronotus davyi + P. gymnonotus</i>	NA	NA	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

**ND1**: Análisis con el gen Nicotinamida Deshidrogenasa Subunidad 1; **CIT B**: Análisis con el gen Citocromo *b*; **RAG 2**: Análisis con el gen Activador de la Recombinación 2; **ARNs**: Análisis con los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y con el gen ribosomal de transferencia de la valina; **ARNs A**: Análisis con los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y con el gen ribosomal de transferencia de la valina; sin los sitios no alineables de éstos genes; **COMB COMP**: Análisis con todos los genes combinados; **COMBA**: Análisis con todos los genes combinados; sin los sitios no alineables de los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y del gen ribosomal de transferencia de la valina; **PS**: Análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada; **MP**: Análisis bajo el criterio de máxima parsimonia; **NA**: No aparece

Cuadro 3 (continuación). Valores bootstrap de los clados recuperados con frecuencia para la familia Mormoopidae

CLADO	ND1 MP	ND1 PS	CIT B MP	CIT B PS	RAG2 MP	RAG2 PS	ARNs MP	ARNs PS	ARN sA MP	ARNs A PS	COMB COMP MP	COMB COMP PS	COMB A MP	COMB A PS
<i>Pteronotus macleayii</i> + <i>P. quadridens</i>	71	97	70	70	98	96	91	99	58	78	100	100	100	100
<i>P. personatus</i> + <i>P. macleayii</i> + <i>P. quadridens</i>	NA	NA	NA	80	NA	NA	NA	NA	NA	<50	NA	NA	NA	NA
<i>Pteronotus parnelli</i> + <i>P. personatus</i>	NA	NA	100	NA	NA	NA	50	65	NA	NA	NA	<50	NA	NA
<i>Pteronotus parnelli</i> + <i>P. personatus</i> + <i>P. macleayii</i> + <i>P. quadridens</i>	NA	NA	<50	NA	NA	NA	NA	<50	NA	NA	NA	80	NA	NA
<i>P. personatus</i> + <i>P. davyi</i> + <i>P. gymnonotus</i>	NA	NA	NA	80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

**ND1:** Análisis con el gen Nicotinamida Deshidrogenasa Subunidad 1; **CIT B:** Análisis con el gen Citocromo *b*; **RAG 2:** Análisis con el gen Activador de la Recombinación 2; **ARNs:** Análisis con los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y con el gen ribosomal de transferencia de la valina; **ARNs A:** Análisis con los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y con el gen ribosomal de transferencia de la valina; sin los sitios no alineables de éstos genes; **COMB COMP:** Análisis con todos los genes combinados; **COMBA:** Análisis con todos los genes combinados; sin los sitios no alineables de los genes de las subunidades ribosomales 12s, 16s y del gen ribosomal de transferencia de la valina; **PS:** Análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada; **MP:** Análisis bajo el criterio de máxima parsimonia; **NA:** No aparece

## RELACIONES INTERFAMILIARES

### ANÁLISIS CON EL GEN RAG 2

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones considerados. En el caso de *Artibeus jamaicensis* tan sólo se contó con una secuencia parcial (444 pb). El alineamiento de este gen dio como resultado 1420 caracteres en total, de los cuales 1077 fueron constantes, 194 variables no informativos y 149 variables e informativos. La gráfica de saturación de TI y TV del gen RAG 2 no permite observar que haya saturación en el caso de las transiciones, aunque en el caso de las transversiones parece que la tendencia se asintotiza hacia las mayores distancias, indicando saturación (Figura 22). El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -1.422159$ ;  $P < 0.01$ ).

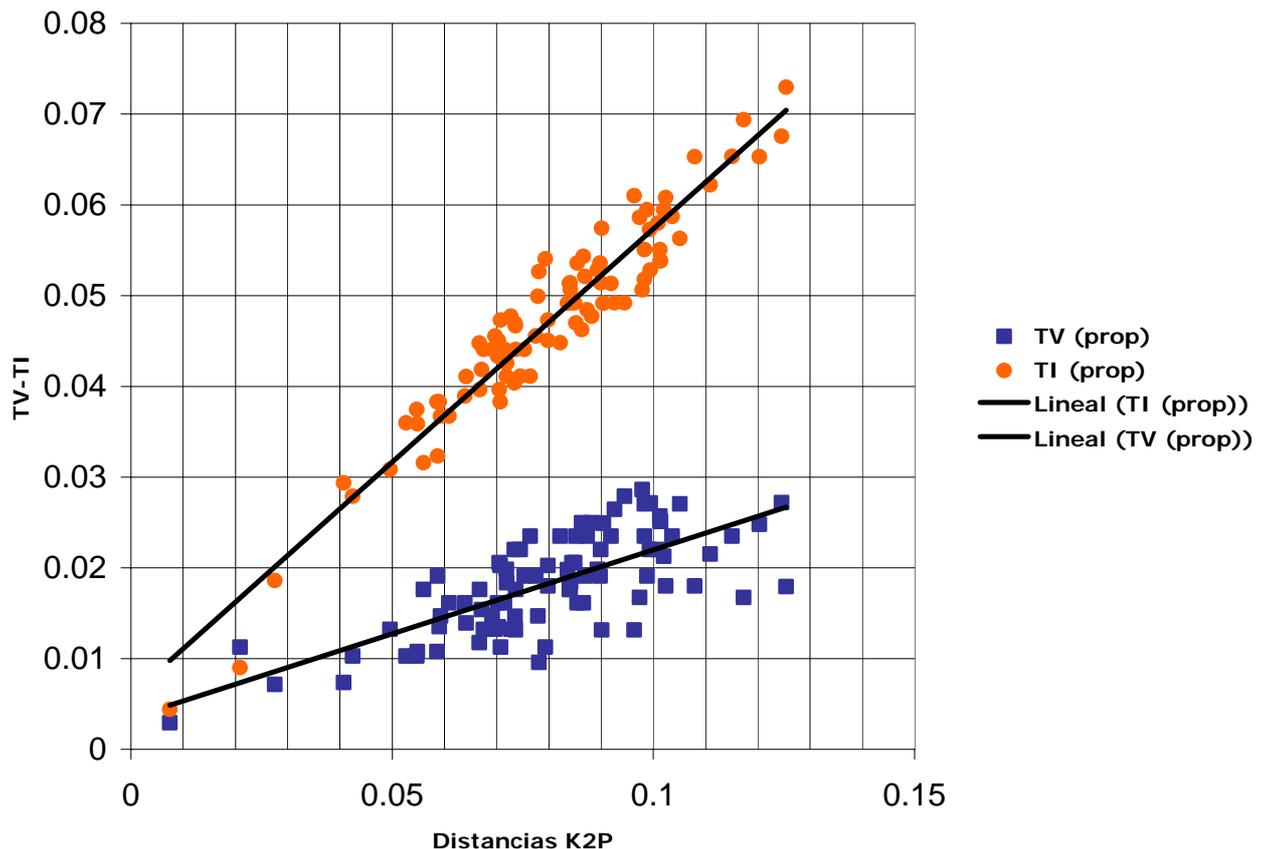


Figura 22. Gráfica de saturación de TV y TI del gen RAG 2. Se representa la proporción de transiciones y transversiones del total de nucleótidos en cada comparación de pares, frente a la distancia genética de Kimura (1980) correspondiente.

Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia, obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 23).

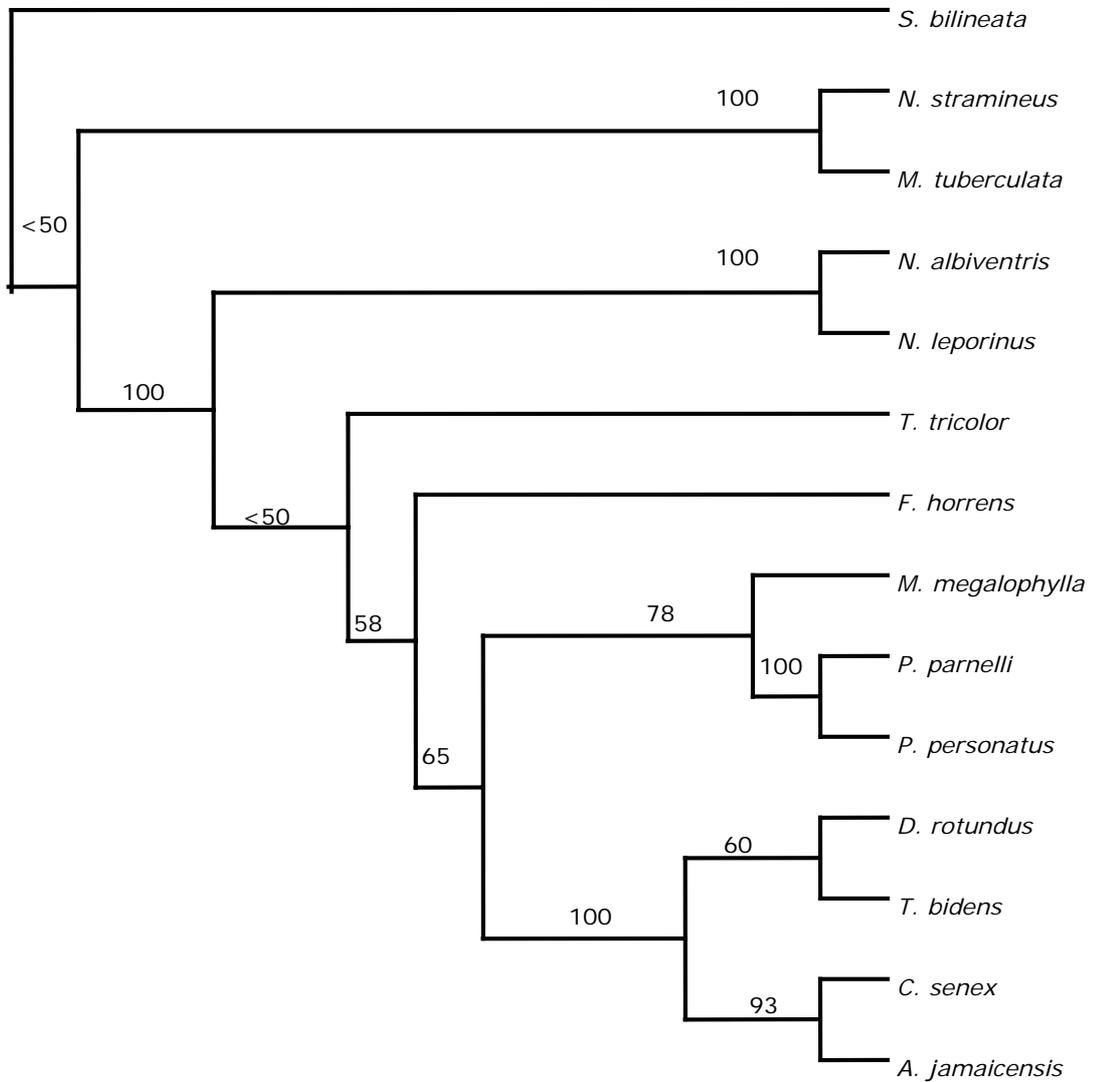


Figura 23. Único árbol más parsimonioso encontrado mediante una búsqueda heurística y bajo el criterio de máxima parsimonia. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con miembros de las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7976, IR= 0.6324. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.



La familia Mormoopidae apareció como hermana de la familia Phyllostomidae cuando hice el análisis bajo el criterio de máxima parsimonia, los valores de bootstrap del nodo que hermana a estas familias fue bajo (65%). Las familias hermanas de los ancestros de los Mormópidos y Filostómidos, en orden ascendente con respecto a la corona apical que agrupó a los Mormópidos y Filostómidos, fueron: Furipteridae (bootstrap 58%), Thyropteridae (bootstrap 50%), Noctilionidae (bootstrap 100%) y Mystacinidae + Natalidae (bootstrap 50%). Este arreglo fue congruente al propuesto por Van Den Bussche *et al.* (2003), a excepción de las familias que no incluyeron (Furipteridae y Mystacinidae). Cuando hice el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada la familia Mormoopidae apareció como hermana de la familia Phyllostomidae pero con valores bajos de bootstrap más bajos (52%). Las familias hermanas a los ancestros de los Mormópidos y Filostómidos en orden ascendente con respecto a la corona apical que agrupó a los Mormópidos fueron: Thyropteridae (bootstrap 95%), Furipteridae + Noctilionidae (bootstrap 83%) y Mystacinidae + Natalidae (bootstrap 50%). Este arreglo también fue congruente al propuesto por Van Den Bussche *et al.* (2003) a excepción de las familias que no incluyeron (Furipteridae y Mystacinidae).

## ANÁLISIS CON EL GEN DMP 1

Excluí de este análisis los taxones para los cuales no existía información de este gen (*Mystacina tuberculata*, *Furipterus horrens*, *Tonatia bidens*, *Artibeus jamaicensis*, y *Pteronotus personatus*). El alineamiento de este gen dio como resultado 1047 caracteres en total, de los cuales 200 fueron variables pero no informativos y 122 variables e informativos. La gráfica de saturación de TV y TI no permite observar que haya saturación en ninguno de los dos tipos de sustituciones para este gen (Figura 25). El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -1.901699$ ;  $P < 0.01$ ).

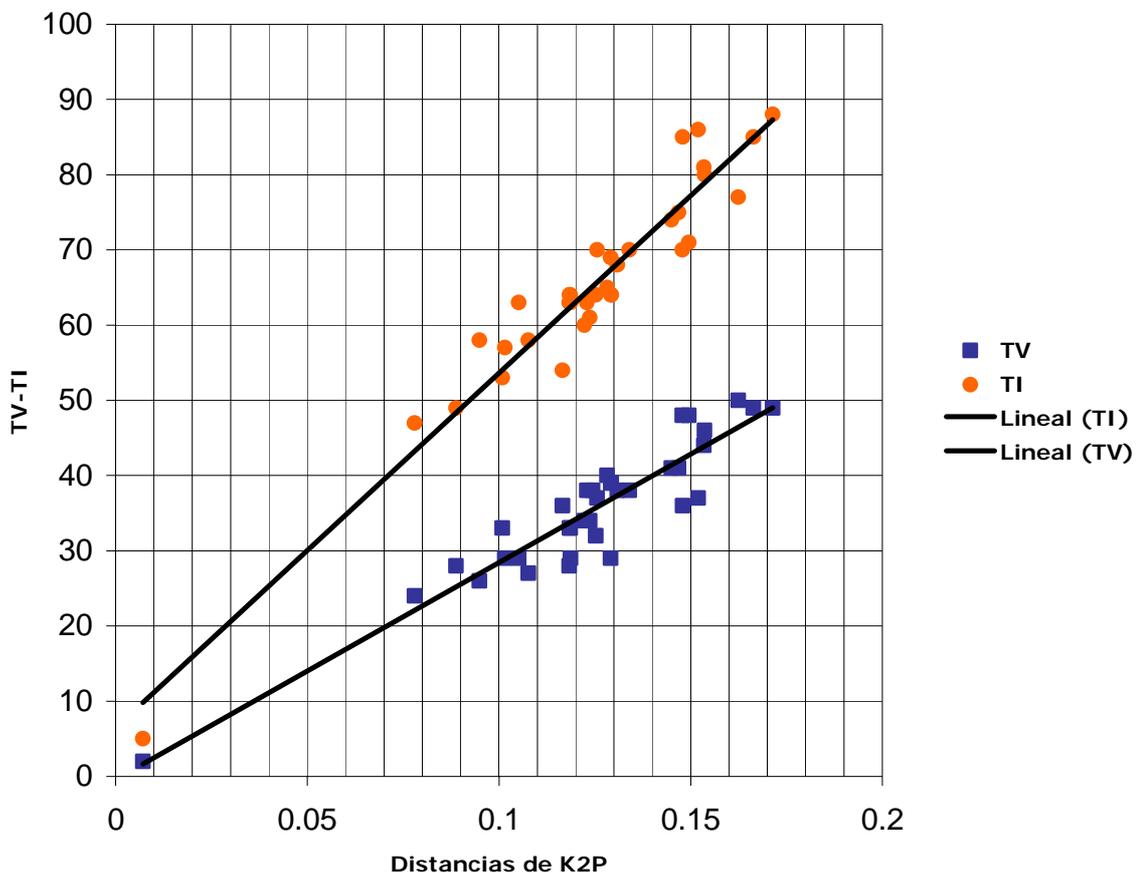


Figura 25. Gráfica de saturación de TV y TI del gen de DMP 1. Se representa el total bruto de transiciones y transversiones del total de nucleótidos en cada comparación de pares, frente a la distancia genética de Kimura (1980) correspondiente.

Al realizar la búsqueda exhaustiva, bajo el criterio de máxima parsimonia obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 26).

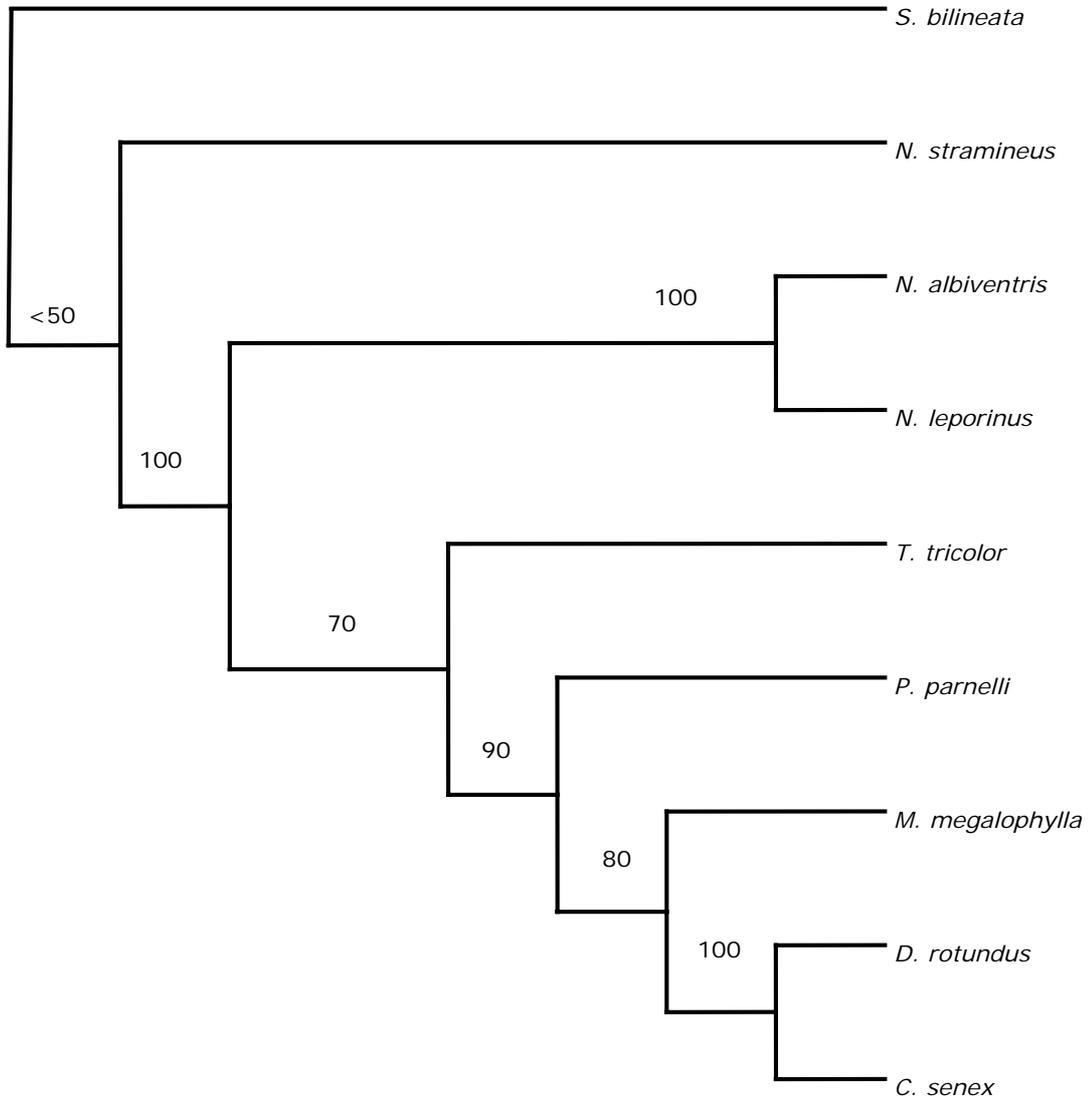


Figura 26. Único árbol más parsimonioso encontrado bajo búsqueda exhaustiva, bajo el criterio de máxima parsimonia. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con miembros de las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.8430, IR= 0.6344. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que se obtuvo ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de cuatro. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron cuatro veces más que las transiciones. Cuando busqué bajo este criterio de parsimonia sopesada, encontré un solo árbol más parsimonioso (Figura 27).

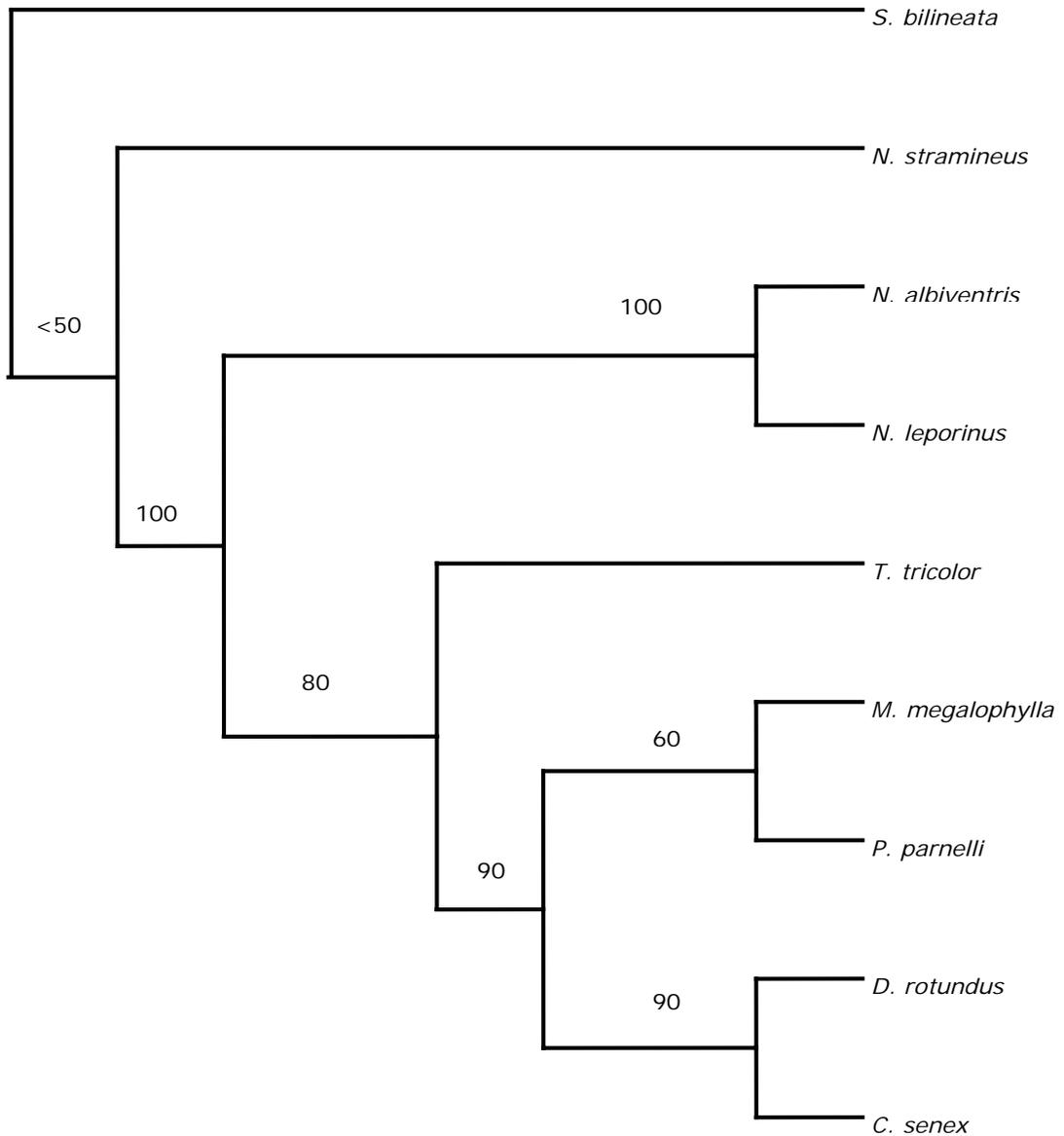


Figura 27. Único árbol más parsimonioso encontrado bajo el criterio de parsimonia sopesada. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con miembros de las familias más cercanas. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.8704, IR= 0.6863. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

Cuando hice el análisis bajo el criterio de máxima parsimonia del gen DMP1, la familia Mormoopidae apareció como parafilética con los miembros de la familia Phyllostomidae. *M. megalophylla* apareció como especie hermana del ancestro de la

familia Phyllostomidae con valores de bootstrap bien soportados (80%). Así mismo, *P. parnelli* apareció como especie hermana del ancestro de *M. megalophylla*+Phyllostomidae (bootstrap 90%). Las familias hermanas de los ancestros de los Mormópidos fueron las siguientes en orden ascendente con respecto a la corona apical que agrupo a los Mormópidos: Thyropteridae (Bootstrap de 70%), Noctilionidae (bootstrap de 100%) y Natalidae (Bootstrap <50%). Esta topología es congruente a la propuesta por Van Den Bussche *et al.* (2003) y Teeling *et al.* (2003), aunque los últimos autores tan sólo incluyen el Mormoopido *P. parnelli*. Cuando hice el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada, la familia Mormoopidae apareció monofilética y hermana de la familia Phyllostomidae (bootstrap de 90%). La posición de las familias ancestrales a los Mormópidos fueron similares a las encontradas bajo el criterio de máxima parsimonia, pero con diferentes valores bootstrap para la familia Thyropteridae (Bootstrap de 80%). Esta topología es congruente a la propuesta por Van Den Bussche *et al.* (2003), excepto la monofilia de *Mormoops*+*Pteronotus*, y Teeling *et al.* (2003).

## ANÁLISIS CON EL GEN EXÓN 28 del fvW

Se excluyeron de este análisis los taxones para los cuales no existía información de este gen (*C. senex* y *N. leporinus*). No dispuse de la misma cantidad de nucleótidos para todos los taxones, aquellos para los cuales la cantidad de nucleótidos fue menor fueron: *M. megalophylla* (888 pb), *P. personatus* (888 pb). El alineamiento de este gen dio como resultado 1230 caracteres en total, de los cuales 231 fueron variables pero no informativos y 155 variables e informativos. En la gráfica de saturación de TV y TI para este gen no se observa saturación de la señal en ninguno de los dos tipos de sustituciones (Figura 28). El grupo de datos, de este gen, tuvo una fuerte señal filogenética. El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -0.717979$ ;  $P < 0.01$ ).

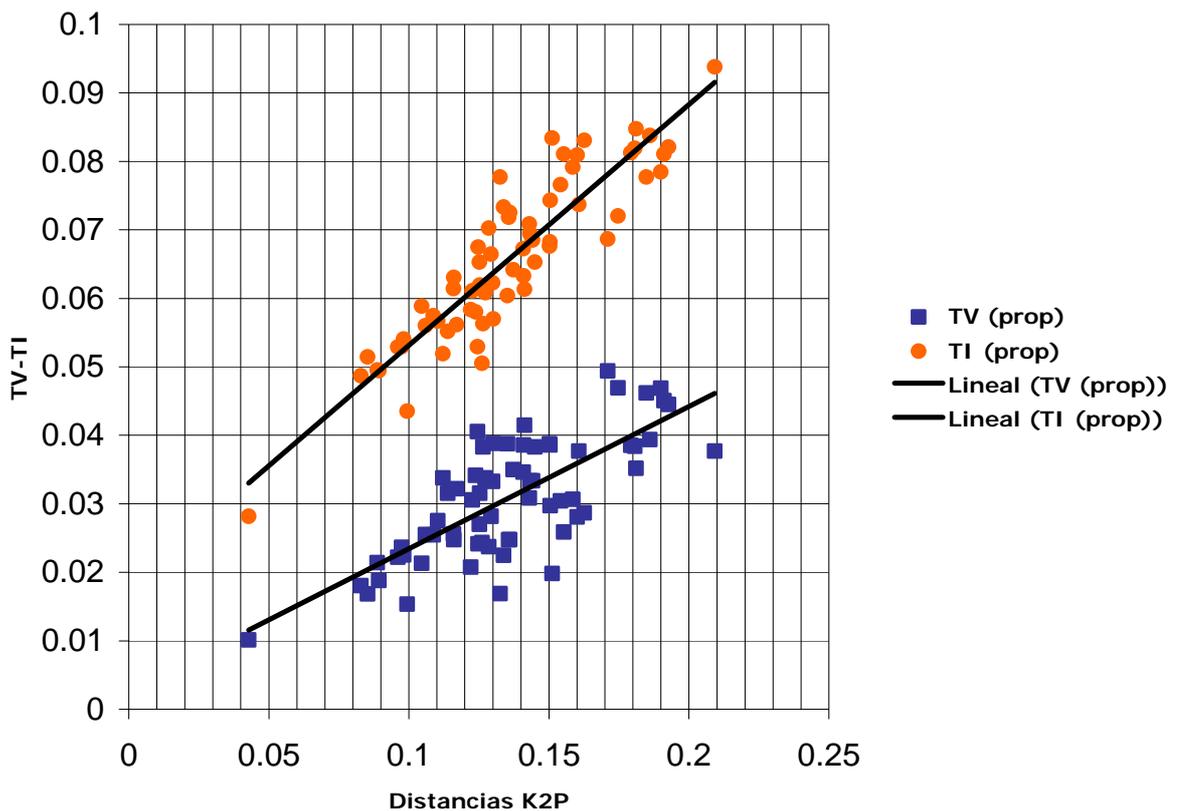


Figura 28. Gráfica de saturación de TV y TI del gen exón 28 del fvW. Se representa la proporción (tanto por uno) de transiciones y transversiones del total de nucleótidos comparados frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia, obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 29).

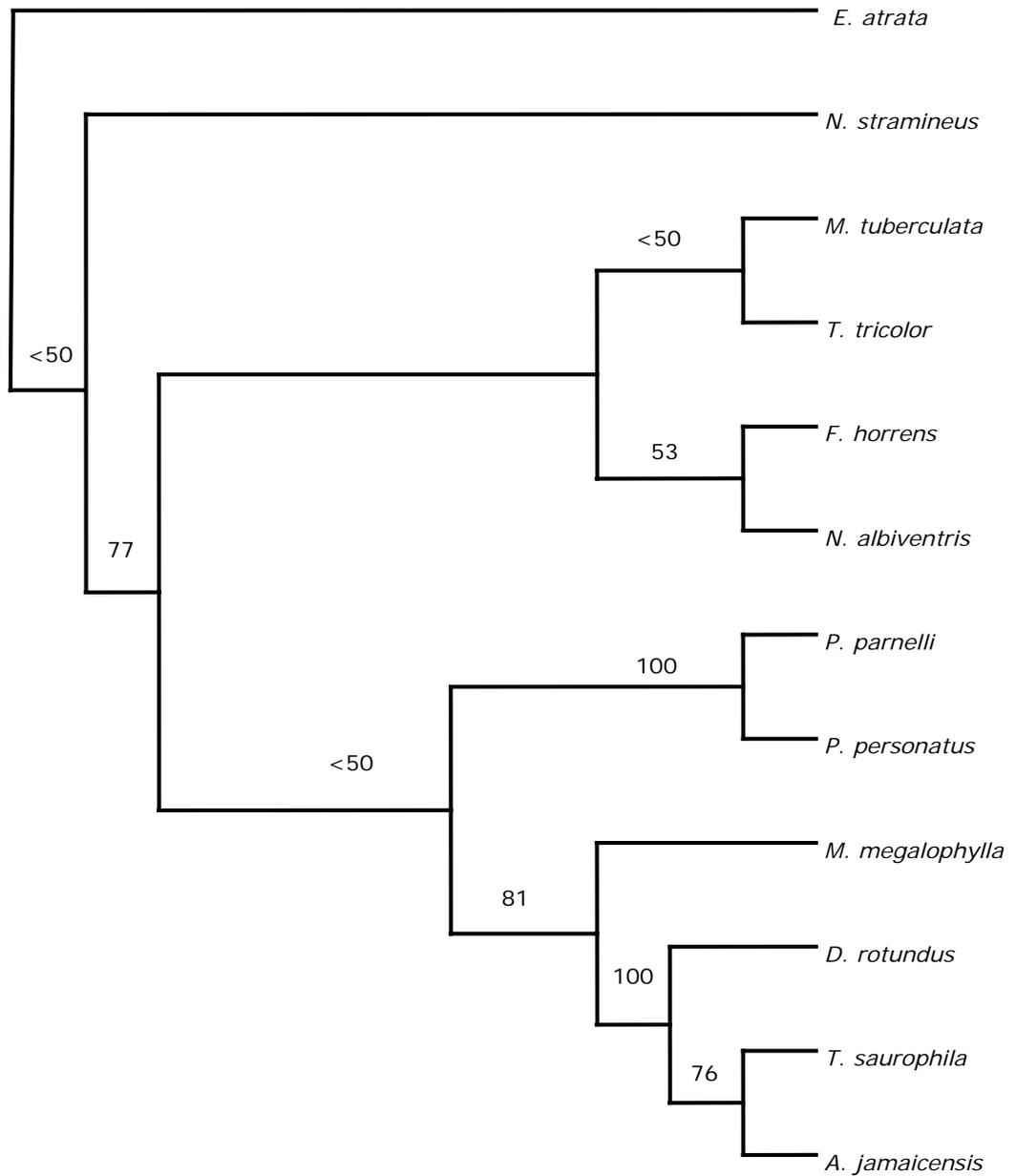


Figura 29. Único árbol más parsimonioso encontrado mediante una búsqueda heurística y bajo el criterio de máxima parsimonia. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con miembros de las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7010, IR= 0.3884. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que se obtuvo ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de seis. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada, las transversiones costaron seis veces más que las transiciones. Cuando hice la búsqueda bajo el criterio de parsimonia sopesada, encontré un solo árbol (Figura 30).

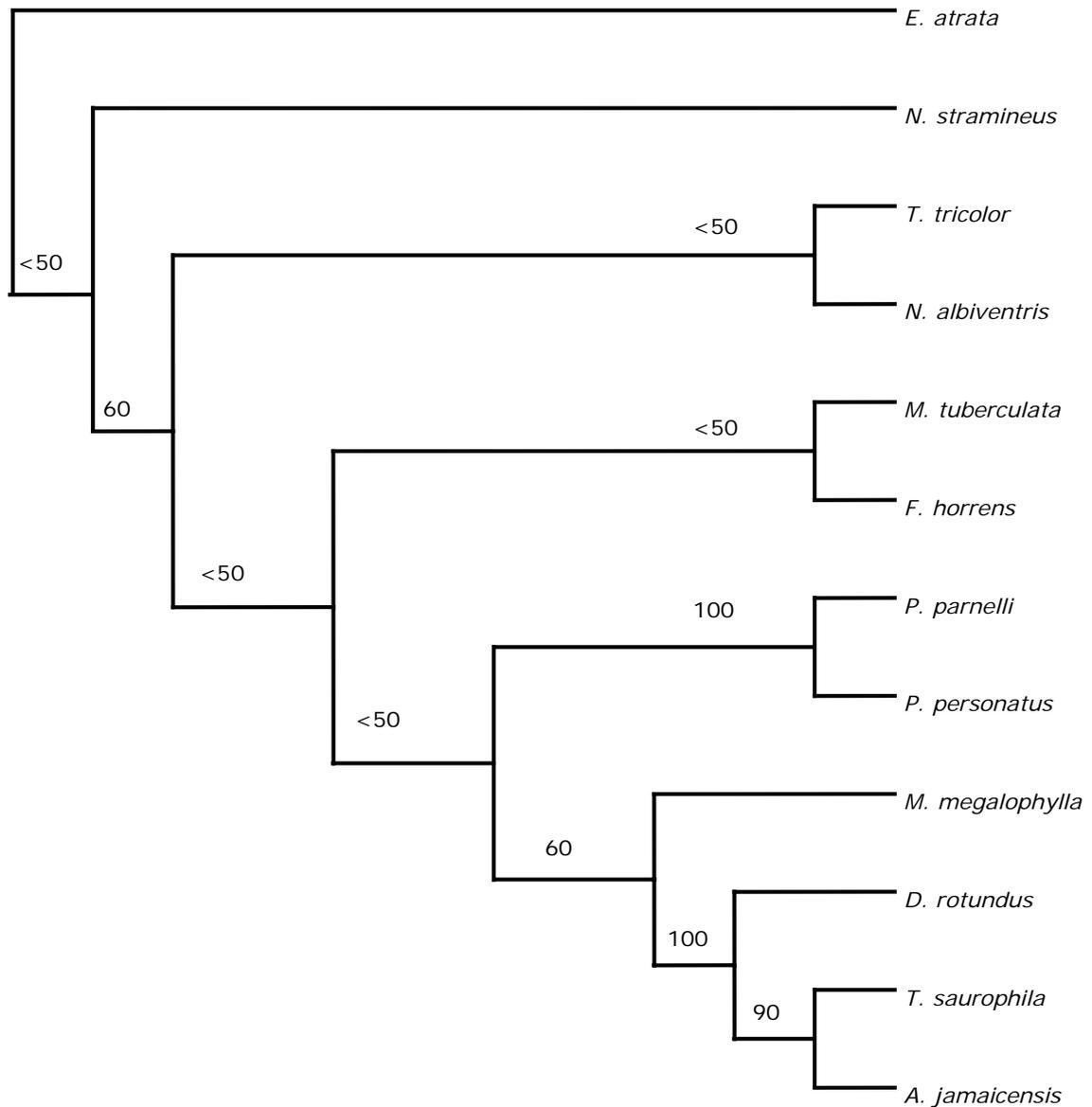


Figura 30. Único árbol más parsimonioso encontrado bajo el criterio de parsimonia sopesada. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con miembros de las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7667, IR= 0.4768. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

En el análisis con el gen e28 del fvW bajo el criterio de máxima parsimonia la familia Mormoopidae apareció como parafilética, con *Mormoops* como hermano

del ancestro de la familia Phyllostomidae (bootstrap de 81%). Las familias hermanas del ancestro de los Mormópidos y Filostómidos fueron las siguientes en orden ascendente: Mystacinidae + Thyropteridae (bootstrap de <50%) y Furipteridae + Noctilionidae (bootstrap de 53%), mientras que la familia Natalidae fue hermana del ancestro común de todos los anteriores al enraizar con *Emballonura*. Esta topología no fue congruente a la expuesta por otros autores como Van Den Bussche *et al.* (2003) y Teeling *et al.* (2003), en las cuales las familias hermanas del ancestro de Mormópidos y Filostómidos, son Thyropteridae y Noctilionidae. Al repetir este análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada la familia Mormoopidae apareció con la misma estructura parafilética con respecto a Phyllostomidae, manteniendo la estructura del árbol anterior pero con diferentes valores bootstrap. Las familias hermanas de los ancestros de los Mormópidos y Filostómidos cambiaron de orden. Quedaron de la siguiente forma en orden ascendente con respecto a la corona apical que agrupó a Mormópidos y Filostómidos: Mystacinidae + Furipteridae (bootstrap de <50%) y Thyropteridae + Noctilionidae (bootstrap de 60%), mientras que *Natalus* se separó del nodo más basal del árbol. Esta topología no fue congruente a la expuesta por otros autores como Van Den Bussche *et al.* (2003) y Teeling *et al.* (2003)

## ANÁLISIS CON EL GEN CITOCROMO *B*

Se excluyeron de este análisis los taxones para los cuales no existía información de este gen (*T. tricolor*, *F. horrens*, *Natalus stramineus*, *Artibeus jamaicensis* y *T. saurophila*). En el caso de *S. bilineata* (401 pb) y *C. senex* (402 pb) sólo dispuse de secuencias parciales. El alineamiento de este gen dio como resultado 1140 caracteres en total, de los cuales 173 fueron variables no informativos y 306 variables e informativos. En la gráfica de saturación de TV y TI para este gen se observa saturación de la señal a distancias genéticas grandes en ambos tipos de sustituciones (Figura 31). El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -1.510598$ ;  $P < 0.01$ ).

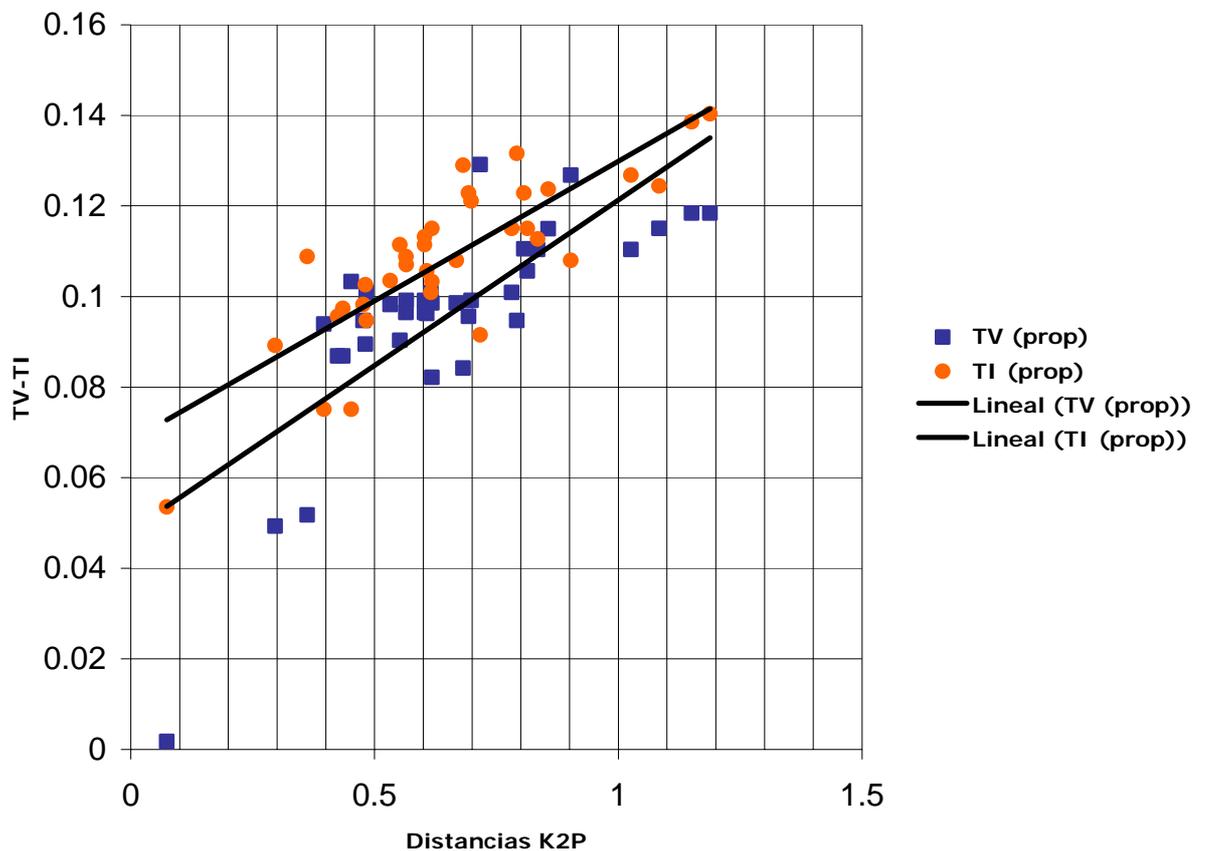


Figura 31. Gráfica de saturación de TV-TI del gen Citocromo *b*. Se representa la proporción (tanto por uno) de transiciones y tranversiones del total de nucleótidos comparados frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia, obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 32).

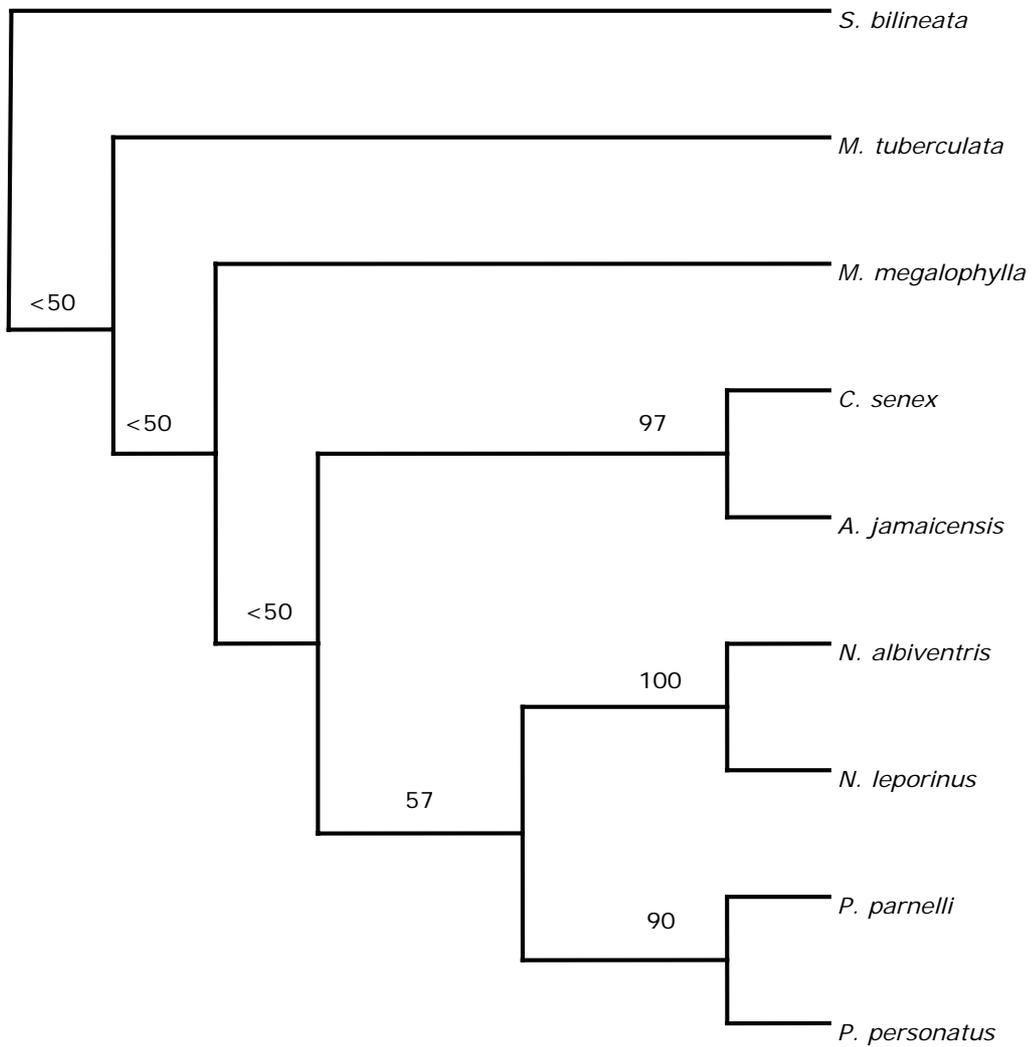


Figura 32. Único árbol más parsimonioso encontrado mediante una búsqueda heurística y bajo el criterio de máxima parsimonia. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7045, IR= 0.4617. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que se obtuvo ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de nueve. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron nueve veces más que las transiciones. Cuando hice la búsqueda bajo el criterio de parsimonia sopesada, encontré un solo árbol (Figura 33).

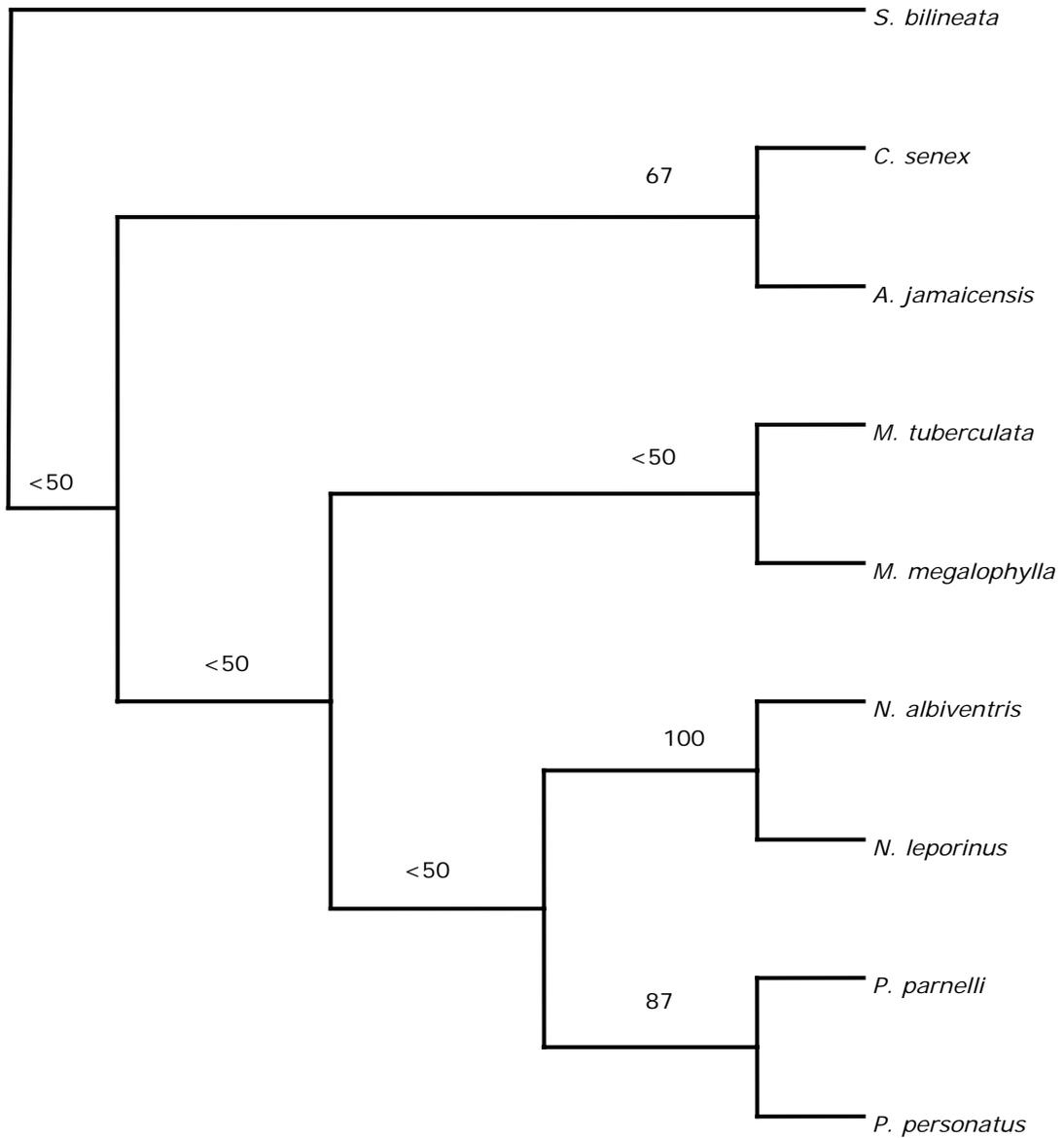


Figura 33. Único árbol más parsimonioso encontrado bajo el criterio de parsimonia sopesada. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.6722, IR= 0.5096. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El árbol más corto recuperado al hacer el análisis bajo el criterio de máxima parsimonia presenta a los Mormópidos de forma parafilética, situando a *Mormoops* como hermano del ancestro común de Filostómidos, Noctiliónidos y *Pteronotus*. Sin

embargo, los tres nodos más basales de esta topología no reciben soporte bootstrap, lo cual resulta en una falta de resolución que reduce la hipótesis a una gran politomía basal desde la que tan sólo se definen el linaje de los Filostómidos, y el grupo formado por *Pteronotus* más los Noctiliónidos. Este último nodo también alcanza un nivel de soporte muy bajo (57%), nivel al cual debe quedar la confianza de que esa relación corresponda a la historia real. Esta topología no fue congruente con ninguna antes reportada por otros autores. Al repetir el análisis pero bajo el criterio de parsimonia sopesada, la falta de resolución aumentó, y al colapsar los nodos con valores de soporte inferior al 50%, la topología se reduce a una gran politomía basal de la cual tan sólo se definen 3 linajes, los formados por los dos Filostómidos, los dos Noctiliónidos, y los dos *Pteronotus*. Esta hipótesis fue congruente con la reportada bajo el criterio de máxima parsimonia, por Kennedy *et al.* (1999).

## ANÁLISIS COMBINADO

Para este análisis dispuse de información para todos los taxones, aunque para algunos ésta fue obviamente parcial. En este análisis combiné todos los genes y taxones utilizados en los análisis por separado para cada gen. El alineamiento para todo el conjunto de genes nucleares más el Citocromo *b* me dio como resultado 3640 caracteres en total, de los cuales 865 fueron variables pero no informativos y 737 variables e informativos. En la gráfica de saturación se observa una ligera saturación de la señal en las transiciones, que no se alcanza a percibir en la tendencia de las transversiones (Figura 34). El grupo de secuencias de este gen tenía más señal filogenética que un conjunto de datos de tamaño similar construido al azar ( $g_1 = -1.676837$ ;  $P < 0.01$ ).

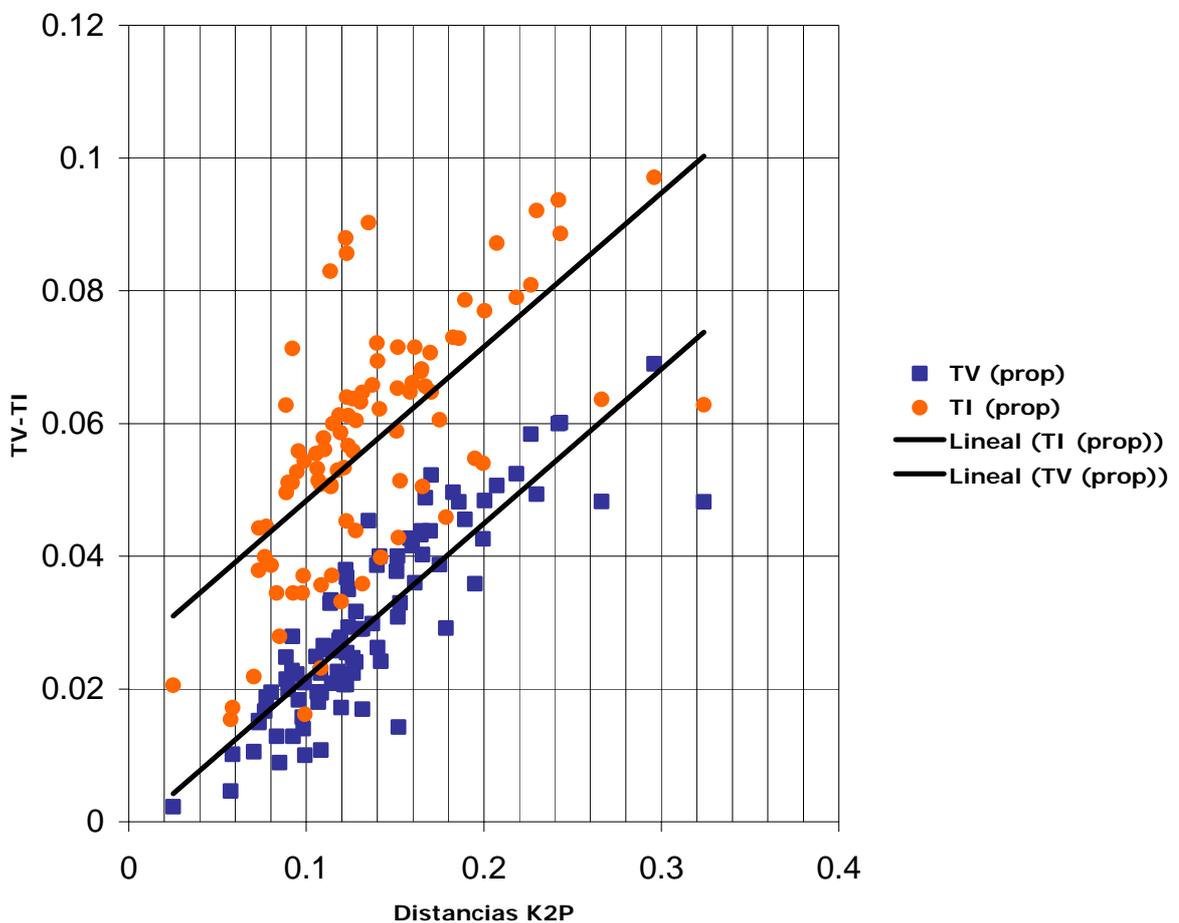


Figura 34. Gráfica de saturación de TV y TI para todos los genes nucleares más Citocromo *b*. Se representa la proporción (tanto por uno) de transiciones y transversiones del total de nucleótidos comparados frente a las distancias genéticas de Kimura (1980).

Al realizar la búsqueda heurística, bajo el criterio de máxima parsimonia obtuve un único árbol más parsimonioso (Figura 35).

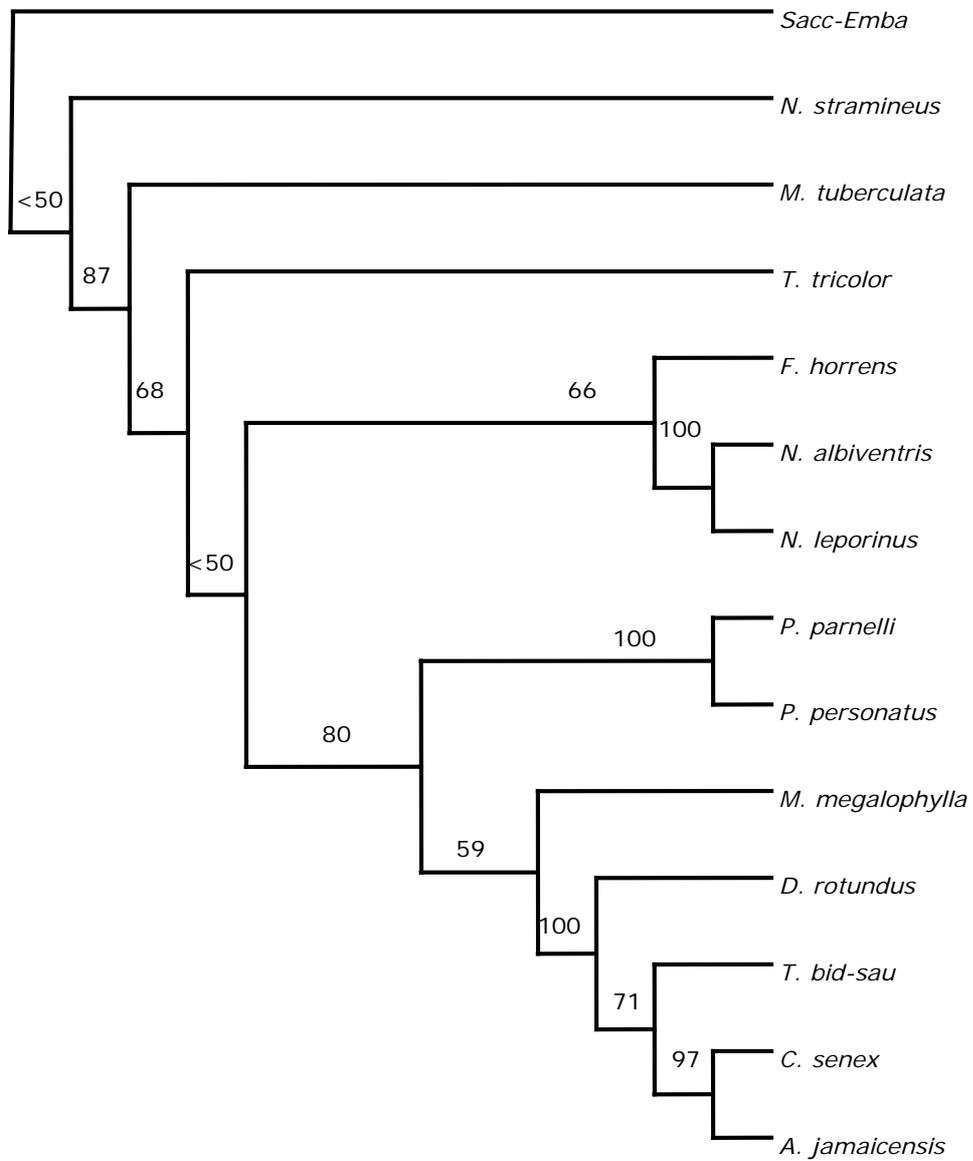


Figura 35. Único árbol más parsimonioso encontrado mediante una búsqueda heurística y bajo el criterio de máxima parsimonia. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7377, IR= 0.4836. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

El valor del parámetro kappa que se obtuvo ajustando el modelo de evolución HKY85 al árbol anterior, fue de cinco. Consecuentemente, en la matriz de sustitución para el análisis de parsimonia sopesada las transversiones costaron cinco veces más que las transiciones. Cuando hice la búsqueda bajo el criterio de parsimonia sopesada, encontré un solo árbol más parsimonioso (Figura 36).

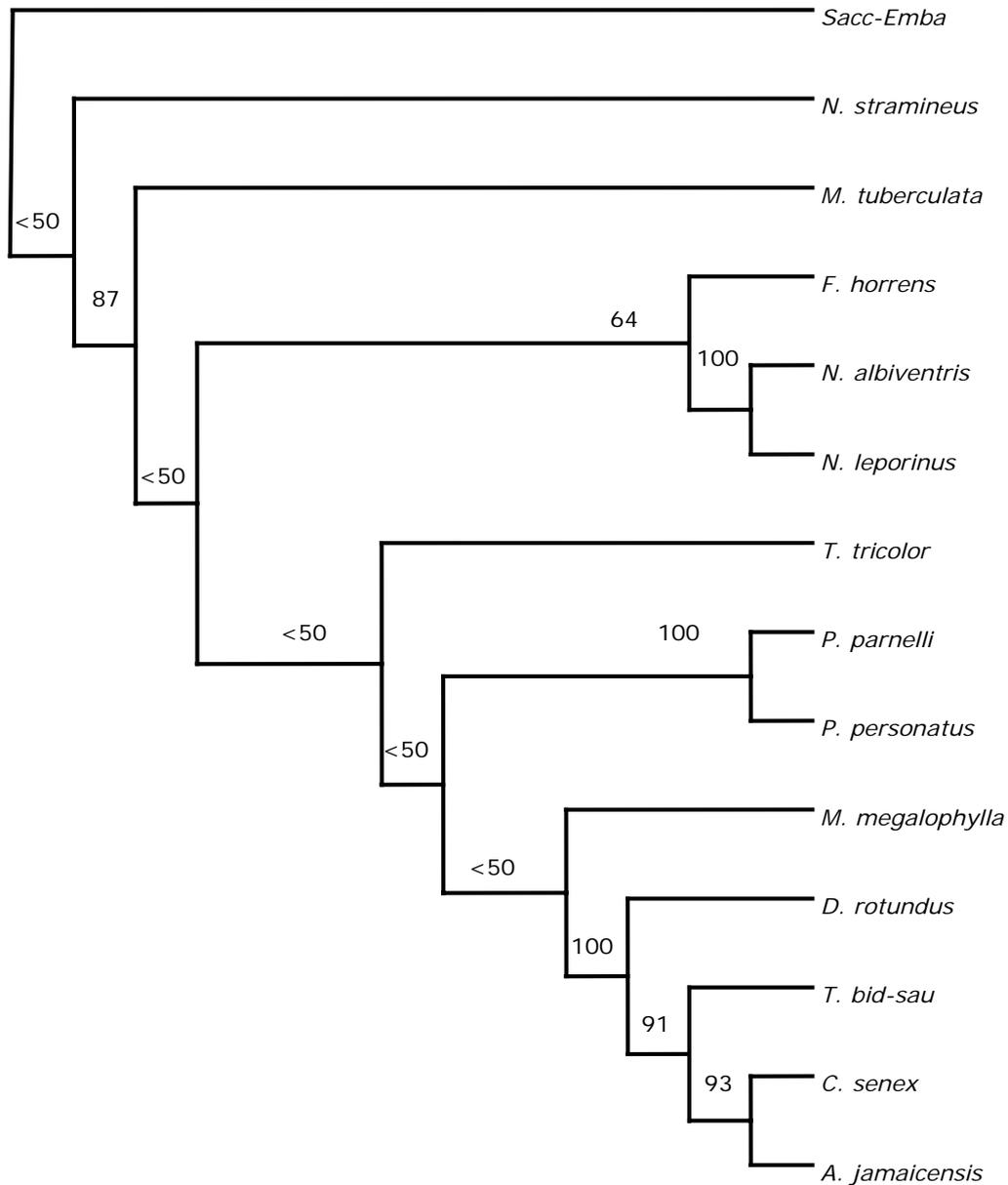


Figura 36. Único árbol más parsimonioso encontrado mediante el criterio de parsimonia sopesada. Muestra las relaciones filogenéticas de la familia Mormoopidae con las familias más cercanas a ella. Usé como grupos externos a *S. bilineata* y *N. stramineus*. IC= 0.7515, IR= 0.5298. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

En el análisis bajo el criterio de máxima parsimonia, la familia Mormoopidae apareció como parafilética, si bien el nodo en el que *M. megalophylla* aparece como

hermano del ancestro de los Filostómidos tiene un nivel de soporte muy bajo (bootstrap de 59%). Las familias hermanas de los ancestros de los Mormópidos y Filostómidos fueron las siguientes en orden ascendente, con respecto a la corona apical que incluye a los Mormópidos: Furipteridae + Noctilionidae (bootstrap de <50%), Thyropteridae (bootstrap de 68%), Mystacinidae (bootstrap de 87%), Natalidae (bootstrap de <50%) y Emballonuridae como grupo basal. Esta topología es parcialmente congruente con las reportadas por Van Den Bussche *et al.* (2003), excepto por la inclusión de la familia Furipteridae como hermana de los Noctiliónidos. Al repetir el análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada, la familia Mormoopidae apareció como hermana de la familia Phyllostomidae. *M. megalophylla* resultó como especie hermana al ancestro de los Filostómidos (bootstrap <50%). Las familias hermanas de los ancestros de los Mormópidos y Filostómidos fueron las siguientes en orden ascendente, con respecto a la corona apical que incluyó a los Mormópidos: Thyropteridae (bootstrap de <50%), Furipteridae + Noctilionidae (bootstrap de <50%), Mystacinidae (bootstrap de 87%), Natalidae (bootstrap de <50%) y Emballonuridae como grupo basal. Considerando que los nodos con soporte por debajo del 50% indican la falta de resolución y la necesidad de colapsarlos, esta hipótesis es compatible con las propuestas por Hofer *et al.* (2003), y por Teeling *et al.* (2003).

## SÍNTESIS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS INTERFAMILIARES

A continuación agrego un cuadro, a manera de resumen de esta sección. En ella se muestran los nodos recuperados más frecuentemente para la superfamilia Noctilionoidea, con cada uno de los genes analizados, con los respectivos valores bootstrap (Cuadro 4).

Cuadro 4. Valores bootstrap de los clados recuperados con frecuencia para la superfamilia Noctilionoidea.

CLADO	RAG 2 MP	RAG 2 PS	DMP 1 MP	DMP 1 PS	e28fVW MP	e28fVW PS	CIT B MP	CIT B PS	COMB MP	COMB PS
Mormoopidae	78	80	NA	60	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mormoopidae + Phyllostomidae	65	52	90	90	<50	<50	NA	NA	80	<50
Mormoops + Phyllostomidae	NA	NA	80	NA	81	60	NA	NA	59	<50
Noctilionidae + Pteronotus	NA	NA	NA	NA	NA	NA	57	<50	NA	NA
Noctilionidae + Furipteridae	NA	73	NA*	NA*	53	NA	NA	NA	66	64
Noctilionidae + Thyropteridae + Furipteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	100	83	NA*	NA*	NA	NA	NA	NA	68	NA
Noctilionidae + Thyropteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	NA	100	100	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Thyropteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	95	70	80	NA	NA	NA	NA	NA	<50

**RAG 2:** Análisis con el gen Activador de la Recombinación 2; **DMP 1:** Análisis con el gen de la matriz de la dentina 1; **e28fVW:** Análisis con el gen del factor de Von Willebrand; **CIT B:** Análisis con el gen Citocromo *b*; **COMB:** Análisis con todos los genes combinados; **MP:** Análisis bajo el criterio de máxima parsimonia; **PS:** Análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada; **NA:** No aparece; **NA\*:** No aparece por no haber secuencias de alguna familia del nodo.

Cuadro 4 (Continuación). Valores bootstrap de los clados recuperados con frecuencia para la superfamilia Noctilionoidea.

CLADO	RAG 2	RAG 2	DMP 1	DMP 1	e28fVW	e28fVW	CIT B	CIT B	COMB	COMB
	MP	PS	MP	PS	MP	PS	MP	PS	MP	PS
Phyllostomidae + Noctilionidae + Pteronotus	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<50	<50	NA	NA
Mystacinidae + Noctilionidae + Thyropteridae + Furipteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	NA	NA*	NA*	77	60	NA	NA	87	87
Mystacinidae + Noctilionidae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	NA	NA*	NA*	NA	NA	<50	<50	NA	NA
Natalidae + Mystacinidae + Noctilionidae + Thyropteridae + Furipteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	<50	<50	NA*	NA*	<50	<50	NA	NA	<50	<50
Natalidae + Noctilionidae + Thyropteridae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	NA	<50	<50	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Furipteridae + Noctilionidae + Mormoopidae + Phyllostomidae	NA	NA	NA*	NA*	NA	NA	NA	NA	<50	<50
Natalidae + Mystacinidae	100	78	NA*	NA*	NA	NA	NA	NA	NA	NA

**RAG 2:** Análisis con el gen Activador de la Recombinación 2; **DMP 1:** Análisis con el gen de la matriz de la dentina 1; **e28fVW:** Análisis con el gen del factor de Von Willebrand; **CIT B:** Análisis con el gen Citocromo *b*; **COMB:** Análisis con todos los genes combinados; **MP:** Análisis bajo el criterio de máxima parsimonia; **PS:** Análisis bajo el criterio de parsimonia sopesada; **NA:** No aparece; **NA\*:** No aparece por no haber secuencias de alguna familia del nodo

## DISCUSIÓN

### RELACIONES INTRAFAMILIARES

Los estudios clásicos con diversos caracteres morfológicos y cromosómicos (Smith 1972, figura 37A, y Arnold *et al.* 1982) afirmaron la monofilia de la familia de los Mormópidos, y de los dos géneros que la integran (*Mormoops* y *Pteronotus*). Sin embargo las relaciones propuestas entre las seis especies actuales del género *Pteronotus* diferían entre los estudios. Mientras que para Smith (1972) y Arnold *et al.* (1982), el subgénero *Phyllodia*, monotípico e integrado únicamente por la especie *P. parnelli*, sería el hermano del ancestro común de todas las demás especies del género, Simmons y Conway (2001) encuentran mayor evidencia a favor de que el hermano del ancestro de todas las demás especies sea el ancestro común de las dos especies del subgénero *Pteronotus*. La hipótesis filogenética propuesta por Arnold *et al.* (1982) no tenía la resolución suficiente como para comprobar la estructura subgenérica propuesta por Smith (1972, figura 37A), pero esta última fue apoyada por el trabajo de Simmons y Conway (2001). Los estudios basados en el análisis de secuencias de nucleótidos, como los de Lewis-Oritt *et al.* (2001, figura 37B) y Van Den Bussche y Weyandt (2003, figura 37C) mantuvieron la incertidumbre dentro del género *Pteronotus* (ver antecedentes y figura 37).

En este trabajo, los árboles más cortos encontrados en los análisis de cada uno de los genes por separado recuperaron a menudo la monofilia de la familia Mormoopidae. Sin embargo, los valores de soporte fueron muy bajos, tan sólo alcanzando valores por encima del 60% en el caso de los análisis con los ARNs sin excluir las posiciones no alineables (Figura 27). En algunos casos (análisis con el gen Citocromo *b*, con RAG2 no sopesado, y con los ARNs excluyendo los sitios no alineables) no se recuperó la monofilia de la familia en los árboles más cortos, o los niveles de soporte bootstrap no sobrepasaron el 50% (Cuadro 3). En estos casos, los dos géneros, *Mormoops* y *Pteronotus*, se encontraron en una politomía en la que siempre estuvo presente la familia Phyllostomidae, a menudo la familia Noctilionidae, y unas pocas veces, Furipteridae, Mystacinidae y Thyropteridae. En los análisis combinados sí se recuperó la monofilia de la familia, cuando se incluyeron las posiciones no alineables, en cuyo caso el soporte bootstrap fue del 80% en la máxima parsimonia, subiendo hasta el 100% con la parsimonia sopesada, así mismo, al hacer el análisis bajo máxima parsimonia eliminando las posiciones no alineables, con un soporte bootstrap de 100% (Cuadro 3 y figuras 18, 19 y 37D respectivamente).

Sin embargo, cuando se eliminaron las posiciones no alineables de los ARNs, en el análisis de parsimonia sopesada, los géneros *Mormoops* y *Pteronotus* se situaron de nuevo en una politomía que también incluía el linaje de los Phyllostomidae (Figura 21).

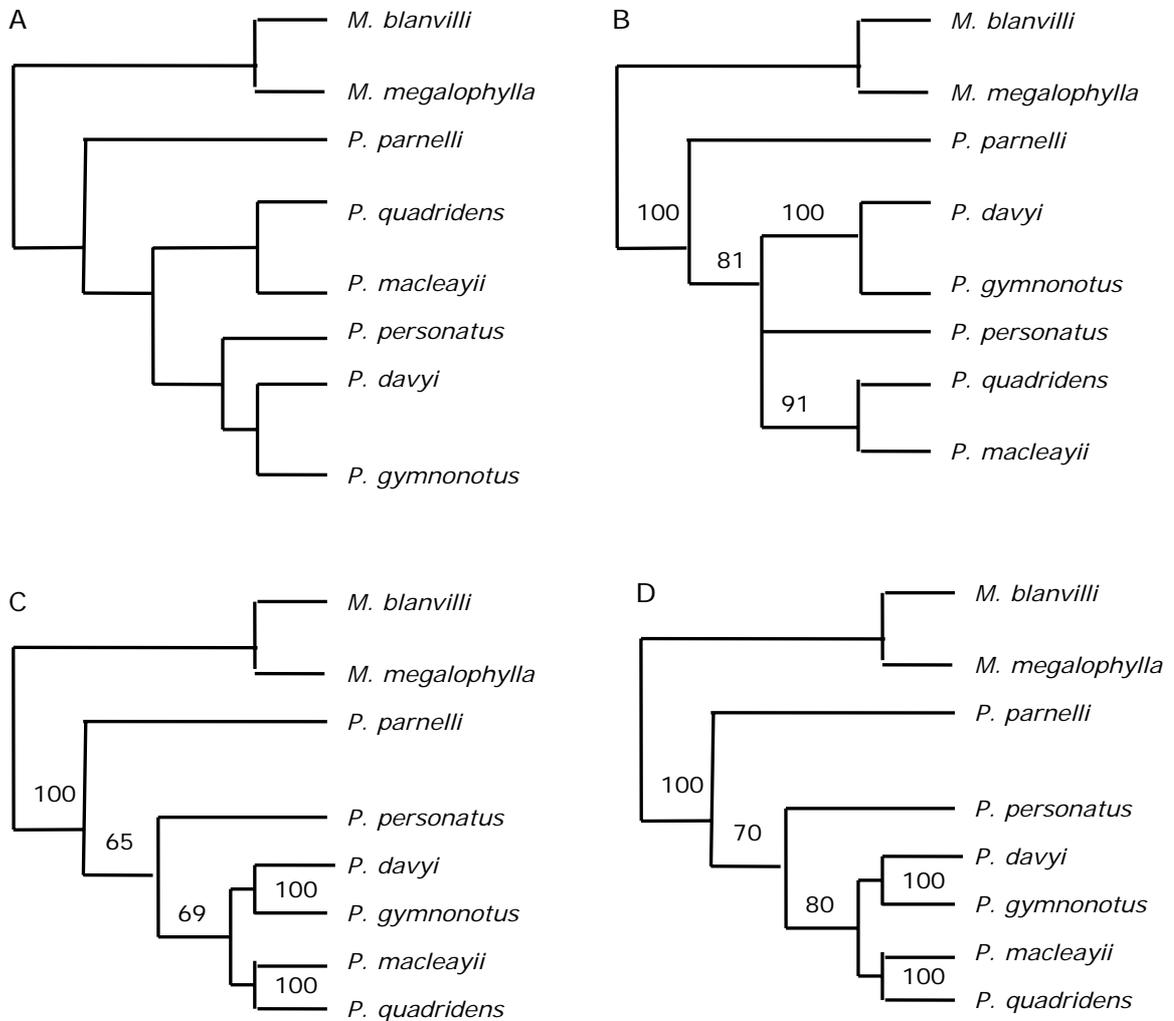


Figura 37. (A) Hipótesis del análisis fenético de Smith (1972) de los miembros de la familia Mormoopidae. (B) Hipótesis del análisis filogenético de Lewis-Oritt (2001) con los genes Citocromo B y RAG 2. (C) Hipótesis del análisis filogenético de Van Den Bussche y Weyandt (2003) con los genes Citocromo B, RAG 2 y de las subunidades de ARN 12s, 16s y ARNt<sup>Val</sup>. (D) Hipótesis del análisis filogenético de este estudio, usando los genes ND1, Citocromo B, RAG 2 y de las subunidades de ARN 12s, 16s y ARNt<sup>Val</sup>; bajo criterio de máxima parsimonia excluyendo los sitios no alineables. Las cifras indican los grados de soporte bootstrap de los nodos correspondientes.

Los genes codificadores de proteínas, bien parecen mutar demasiado rápido como para mantener señal a la profundidad del evento de separación entre los géneros de Mormoopidae (probable caso del ND1 y Citocromo *b*), o tienen un número de caracteres informativos demasiado pequeño (caso de RAG 2). Los sitios alineables de los ARNs también evidencian el problema de poca cantidad de sitios informativos. Entonces resulta que los sitios no alineables de los ARNs tienen un papel decisivo en la resolución de la monofilia de los Mormoopidae. Sin embargo, este conjunto de datos, correspondiente a las asas de la estructura secundaria del gen, resulta de dudoso valor filogenético a priori, por la alta frecuencia mutaciones y, especialmente, de inserciones y supresiones de nucleótidos que dificultan el establecimiento de la homología posicional. Sin embargo, un examen de estos sitios demuestra que el conjunto tiene considerable señal filogenética ( $g_1 = -0.69$ ;  $p < 0.01$ ), y que la señal a nivel de transversiones no evidencia ninguna señal de saturación. O sea, que el conjunto presenta considerable señal filogenética por encima del ruido, probablemente debido a la gran cantidad de sitios variables e informativos que ofrece.

El fondo del problema de resolución está en la pequeña longitud de los internodos (poco tiempo entre eventos de cladogénesis) que conectan los dos géneros de Mormoopidae y los Phyllostomidae, unido a la gran longitud de las ramas distales, lo cual puede causar un problema de "atracción de ramas largas", al que los métodos de parsimonia son susceptibles (Jin y Nei 1990), y que ya Kennedy *et al.* (1999) invocaron como posible causa de la parafilia de los Mormoopidae que ellos encontraron en análisis de secuencias parciales del Citocromo *b*. De todas formas, tampoco los análisis para el problema interfamiliar resuelven de forma clara la monofilia de los Mormoopidae (ver más abajo).

Así que se puede concluir que hay cierta evidencia en favor de la monofilia de la familia, que no acaba de ser concluyente, y la cual sería importante corroborar con secuencias de más genes nucleares codificadores de proteínas. Estos genes evolucionan a una tasa adecuada para la profundidad histórica del problema, y no tienen problemas en el establecimiento de la homología posicional, aunque normalmente no ofrecen una cantidad de sitios informativos suficientes por separado. Por otro lado, es importante realizar los análisis filogenéticos con otros métodos de inferencia, tales como la máxima verosimilitud y la inferencia Bayesiana, que manejan de forma más eficiente el hecho de las múltiples sustituciones en la misma posición, y que por tanto son menos susceptibles al problema de atracción de ramas largas.

Los análisis apoyan decididamente la monofilia independiente de los dos géneros, *Mormoops* y *Pteronotus*, con valores altos de soporte en todos los análisis (Cuadro 3). No tan claras son las conclusiones con respecto a la estructura interna del género *Pteronotus*. La hipótesis de que *P. parnelli* sea el linaje hermano del ancestro de todos los demás miembros del género es la que recibe mayor grado de soporte en cuanto a la estructura profunda del grupo. El nodo que agruparía a todos los *Pteronotus* a excepción de *P. parnelli* recibe buen soporte en el caso de los análisis sopesado con el Citocromo *b*, y no sopesado con el RAG 2, bajo con el sopesado del RAG 2, y moderado con el combinado sin sopesar sin los sitios no alineables. La hipótesis alternativa más común es la de la hermandad de *P. parnelli* con *P. personatus*, que es apoyada con un bootstrap del 100% en el análisis no sopesado de los datos del Citocromo *b*, y con un 65% en el caso del análisis sopesado con los datos de los ARNs incluyendo los sitios no alineables (Cuadro 3). La evidencia se decanta hacia la primera opción, pero no es en modo alguno concluyente, indicando que los momentos de separación de los linajes de *P. parnelli*, *P. personatus*, y el que lleva al resto de los *Pteronotus*, están muy próximos en el tiempo, y que los datos disponibles no son suficientes para resolver el orden de forma definitiva.

En el siguiente nivel hacia la corona de la filogenia, encontramos que hay cierto soporte para la hipótesis de que *P. personatus* sea hermano del resto de las especies del género (exceptuando *P. parnelli*). La monofilia de *P. davyi*, *P. gymnonotus*, *P. macleayii*, y *P. quadridens* aparece apoyada por arriba del 70% en el caso de los análisis con el gen RAG 2, y en los análisis combinados sin los sitios no alineables de los ARNs el soporte sube al 80% y 90%. Las posiciones alternativas de *P. personatus* dentro de la corona apical nunca reciben soporte por encima del 50%, con la excepción de la presencia de la especie como hermana del subgénero *Pteronotus* (*P. davyi* y *P. gymnonotus*) con un soporte del 80% en el caso del análisis sopesado con datos del Citocromo *b*. De nuevo debemos considerar la hipótesis de la monofilia de *P. davyi*, *P. gymnonotus*, *P. macleayii*, y *P. quadridens* como la más probable, sobretodo con base en los resultados del análisis combinado, y del RAG2, que es el gen que mayor resolución parece ofrecer a la profundidad filogenética implicada. Atendiendo a dicha hipótesis, *P. personatus* dejaría de pertenecer al subgénero *Chylonycteris*. De todas formas, la conclusión dista de ser firme, y la resolución de las relaciones entre *P. parnelli*, *P. personatus*, y los linajes de subgénero *Pteronotus*, y el formado por *P. macleayii* y *P. quadridens* depende de la generación de más datos de genes nucleares y mitocondriales que permitan acumular una cantidad de caracteres suficiente como para romper la politomía basal del género.

Al igual que se comenta arriba, es importante realizar los análisis filogenéticos con otros métodos de inferencia, tales como la máxima verosimilitud y la inferencia Bayesiana.

Las relaciones entre las cuatro especies restantes parecen claras, encontrándose abundante soporte en la mayoría de los genes para afirmar la monofilia del subgénero *Pteronotus* por un lado, y de *P. macleayi* y *P. quadridens*, los restos del subgénero *Chilonycteris*, por otro. La topología resultante es congruente con las hipótesis presentadas por Lewis-Oritt (2001) y Van Den Bussche y Weyandt (2003) usando secuencias de nucleótidos de los genes Citocromo *b*, RAG 2, y de las subunidades ribosómicas 12s, 16s de ARN y ARNt<sup>Val</sup> con otros métodos de análisis. Van Den Bussche y Weyandt (2003) ya proponen la exclusión de *P. personatus* del subgénero *Chilonycteris*, pero subrayan la importancia de contrastar su hipótesis filogenética con datos nuevos.

Los resultados de los análisis filogenéticos basados en datos moleculares apoyan la propuesta de Smith (1972) y Arnold *et al.* (1982) en el sentido de que el subgénero monotípico *Phyllodia* (*P. parnelli*), sea el hermano del ancestro común de todas las demás especies del género. En cambio, contradice la hipótesis apoyada por el trabajo de Simmons y Conway (2001), en cuanto a que el hermano del ancestro de todas las demás especies sea el ancestro común de las dos especies del subgénero *Pteronotus*. Por otro lado, los análisis moleculares contradicen la organización subgenérica propuesta por Smith (1972), y apoyada por el trabajo de Simmons y Conway (2001), en lo referente a la composición del subgénero *Chilonycteris*. Según la evidencia molecular, *P. personatus* representa un linaje independiente del que constituyen las otras dos especies incluidas en este subgénero (*P. macleayi*, *P. quadridens*), según los autores arriba citados, y no existirían relaciones de hermandad entre estos dos linajes. Sin embargo, hay que hacer notar que el subgénero *Chilonycteris* aparece como parafilético en la filogenia propuesta por el mismo Smith (1972), y que en las hipótesis de Simmons y Conway (2001), *P. macleayi* y *P. quadridens* son especies hermanas.

La estructura del género encontrada con los datos moleculares encuentra correspondencias con algunas de las características morfológicas y biogeográficas del grupo. Así, *Pteronotus parnelli*, la única especie del subgénero *Phyllodia*, tienen numerosos caracteres anatómicos únicos (Simmons y Conway 2001), por ejemplo, una cóclea criptococlear, bulla ectotimpánica extendiéndose lateralmente menos de un tercio de la longitud de la cóclea, y el basioccipital marcadamente constreñido entre las cócleas, que se relacionan con el sistema ecolocador. Además, esta especie presenta un sistema de ecolocación extremadamente particular y

especializado; basado en la emisión de pulsos ultrasónicos con un largo y prominente segmento de frecuencia constante.

Este sistema le permite procesar los ecos mediante un sistema de análisis de banda estrecha, y forrajear insectos voladores mientras vuela en el interior del bosque, lo cual no pueden realizar otras especies del género que no utilizan este tipo de sonidos (Neuweiler 2000). Entre las apomorfías que presenta *P. personatus*, una de las más visibles que la diferencia externamente de las otras dos especies incluidas en el subgénero *Chilonycteris*, es el carácter bicolor del pelo dorsal (tricolor en las otras dos especies). La estructura craneal es claramente diferente, con longitud del rostro menor de la mitad de la longitud total del cráneo (mayor o igual en las otras especies). *P. personatus* también muestra pulsos de ecolocación peculiares, en los cuales se suprime casi siempre la porción inicial de frecuencia constante que siempre se presenta en las demás especies del género (Antonio Guillén, Com. Pers.). Las especies que conforman el subgénero *Pteronotus* (*P. davyi* + *P. gymnonotus*) también exhiben una serie de sinapomorfías características, de las cuales la más notable es la unión de las dos membranas alares en la línea medio dorsal, lo cual les da la apariencia de tener la espalda desnuda (Adams 1989 y Simmons y Conway 2001). Otra característica común de estas dos especies, compartida con *P. quadridens* y *P. macleayi*, es la presencia de un elemento inicial de frecuencia constante en sus pulsos de ecolocación (Antonio Guillén, Com. Pers.). Finalmente, *P. quadridens* y *P. macleayi* poseen características morfológicas evidentes para ser agrupadas en un subgénero. Entre las más definitorias están el pelo dorsal tricolor y el rostro de longitud igual o mayor a la mitad de la longitud total del cráneo. Por otro lado, estas dos últimas especies se distribuyen de forma exclusiva en las Antillas mayores, mientras que todas las demás especies son casi exclusivamente continentales, a excepción de *P. parnelli*, que está presente en todas las áreas tropicales del continente americano, y en también en las Antillas mayores y algunas de las menores (Herd 1989; Koopman 1994; Simmons y Conway 2001).

## RELACIONES INTERFAMILIARES

La estructura de las relaciones filogenéticas entre las familias hermanas a los Mormópidos ha estado en debate hasta hoy en día. Si bien Smith (1976, en Simmons 1998) y Patton y Baker (1978, en Simmons y Conway 2001), con datos morfológicos y cromosómicos, propusieron a los Mormópidos como grupo hermano de los Noctilionidos. Van Valen (1979) Novacek (1991) y Simmons y Conway (2001) encontraron que la familia hermana de los Mormópidos son los Filostómidos,

con base en datos morfológicos. Esto refleja el debate con respecto a las relaciones filogenéticas de las familias cercanas a los Mormópodos.

A su vez, Pierson (1986), Kirsch *et al.* (1998) y Kennedy *et al.* (1999), con estudios basados en distancias inmunológicas, hibridación de ADN y de secuencias de nucleótidos, respectivamente, propusieron que la familia Mystacinidae era afín a las familias Noctilionidae, Phyllostomidae y Mormoopidae. A partir de esos trabajos se reconoció al linaje que agrupó a dichas familias con el grado taxonómico de superfamilia Noctilionoidea. Estudios posteriores se enfocaron en corroborar la monofilia de los Noctilionoideos así como en dilucidar el arreglo posicional de las familias de este linaje (Van Den Bussche y Hooper 2000; Simmons y Conway 2001; Van Den Bussche y Hooper 2001; Teeling *et al.* 2003). Estos estudios, basados en secuencias de nucleótidos mantuvieron la incertidumbre sobre la estructura interna de la superfamilia Noctilionoidea (ver antecedentes).

En este trabajo, los árboles más cortos encontrados en los análisis de cada uno de los genes por separado, recuperaron a menudo la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea, compuesta por las familias Mystacinidae, Thyropteridae, Noctilionidae, Furipteridae, Mormoopidae y Phyllostomidae. Este nodo apareció con un buen grado de soporte en los análisis combinados, apoyando así la realidad de su existencia (Hooper *et al.* 2001). Los valores de soporte para la monofilia fueron altos en los análisis con el gen DMP 1 (bootstrap de 100%). En la topología del análisis sopesado la familia Mormoopidae es hermana de Phyllostomidae, y el ancestro común de ambas es hermano de Thyropteridae. A su vez, el ancestro de todos los anteriores es hermano de Noctilionidae. El alto grado de soporte en los diferentes nodos del análisis con este gen, se corresponde con la fuerte señal filogenética que posee, y con la ausencia de saturación a los niveles de divergencia de interés. Sin embargo, para ese análisis no se dispuso de secuencias para *Mystacina tuberculata* y *Furipterus horrens*. En el caso de los análisis con el gen e28fVW y con el Citocromo *b*, la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea se recuperó, pero con niveles de soporte bootstrap bajos a muy bajos, respectivamente, correspondiendo respectivamente a la poca cantidad de sitios variables, y a la saturación histórica de la señal (Cuadro 4).

Con el gen RAG 2 no se recuperó la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea. La familia Mystacinidae apareció junto a la familia Natalidae con un soporte alto (bootstrap de 100% sin sopesar, y 78% al sopesar; Figura 23 y 24). Esto puede deberse al poco tiempo entre los eventos de cladogénesis que separaron al ancestro común de los Noctilionoidea del ancestro común de la superfamilia hermana, los Vespertilionoidea, a los cuales pertenecen los Natalidae

(Hooper *et al.* 2003) y a la saturación de la señal de transversiones a los mayores niveles de divergencia.

Además, la gran longitud de las ramas apicales puede causar un problema de "atracción de ramas largas" (Jin y Nei 1990). Estos análisis arrojaron valores de soporte altos en los nodos internos del resto de la superfamilia, correspondiendo con la alta señal filogenética de este gen.

Las familias Noctilionidae y Furipteridae aparecieron como hermanas en cuatro de los diez análisis. El valor bootstrap más alto de ésta relación fue de 73%, en el análisis con el gen RAG 2, bajo el criterio de parsimonia sopesada (Tabla 4). Esta relación es congruente a la reportada por Van Den Busshe y Hooper (2001) y Hooper *et al.* (2003), con análisis de los ARNs mitocondriales y con éstos más RAG2, respectivamente. Por otro lado, la posición de la familia Thyropteridae fue la más variable en los diversos análisis. Si bien los trabajos de Hooper *et al.* (2003) y Van Den Busshe *et al.* (2003), apoyan la inserción de esta familia en la superfamilia Noctilionoidea, la incongruencia y bajo soporte en la posición de esta familia, tan sólo se pueden resolver con nuevos datos, y con la aplicación de otros métodos de reconstrucción filogenética.

Pasando a la corona de la filogenia dentro de la superfamilia, en ocho de los diez análisis, los miembros de la familia Mormoopidae y de la familia Phyllostomidae trazaron a un ancestro común excluyente de otras familias. Sin embargo, los valores de soporte fueron bajos (65%, y por debajo del 50%) en cinco de los ocho análisis. Solo se alcanzaron valores de soporte altos para esta relación con el gen DMP 1 (90%), y con los genes combinados sin sopesar (80%). Así mismo, en los análisis con los genes exón 28 fvW, Citocromo *b* sin sopesar y con los genes combinados, la monofilia de la familia Mormoopidae no se recuperó. *M. megalophylla* apareció en dichos análisis como hermano del ancestro la familia Phyllostomidae. Esto puede deberse al poco tiempo (internodos cortos) que separa los eventos de cladogénesis entre las dos familias, y entre *Mormoops* y *Pteronotus*, lo cual, unido a la gran longitud de las ramas distales, puede causar otra vez un problema de "atracción de ramas largas" (Jin y Nei 1990).

Así que podemos concluir que con los datos analizados se encuentra bastante evidencia en favor de la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea que, sin embargo, no acaba de ser concluyente. Esto es debido a la relativamente pequeña longitud de los internodos que separan los eventos de cladogénesis en la base del grupo, y a la resolución limitada del conjunto de datos analizado, tanto por el número de caracteres variables disponibles, como por la saturación de la señal en algunos de los genes. Otra razón importante de la falta de resolución reside en

la técnica de inferencia utilizada, la parsimonia, que no utiliza la información presente en los datos de la forma más eficiente.

La clarificación concluyente de las relaciones interfamiliares de este grupo depende de la generación de más datos de genes de evolución relativamente lenta y sin problemas para el establecimiento de la homología posicional, y de la aplicación de técnicas de inferencia filogenética más eficientes en el uso de la información contenida en las secuencias, tales como la máxima verosimilitud o la inferencia Bayesiana.

Nuestros análisis también encuentran apoyo a la hermandad evolutiva de Mormoopidae y Phyllostomidae, aunque de nuevo la evidencia no resulta totalmente concluyente. Especialmente llamativo es que no se recuperara la monofilia de los Mormoopidae en la mayoría de los análisis con genes individuales, ni en los análisis combinados. Aunque la hermandad de los dos géneros de Mormoopidae parece estar firmemente establecida en los análisis de caracteres morfológicos (Simmons y Conway 2001), esta no está lo suficientemente fundamentada en los análisis filogenéticos de datos moleculares. Las dificultades en resolver esta relación se deben a los mismos factores comentados arriba, y la resolución del problema reside en la generación de más datos de secuencia, especialmente para el caso del género *Mormoops*, para el cual los datos disponibles se reducen a los analizados en este trabajo.

La hermandad de las familias Mormoopidae y Phyllostomidae se corresponde con numerosas sinapomorfías morfológicas que agrupan a estas dos familias, tales como la semiverticalidad del ánulus timpánico, que se presenta en un ángulo de 75-90° con el plano basicraneal, borde anterior de la región labio-nasal no proyectado anteriormente por delante del labio inferior, vibrisas geniales reducidas a una por mejilla o ausentes, alas que se pliegan flexionando todas las falanges anteriormente hacia la parte de abajo del ala en los dedos III, IV y V, tercera falange del dedo III del ala larga y completamente osificada, y espina púbica con longitud igual o mayor que la mitad de la longitud del ilium (Simmons y Conway 2001).

La cercanía de la familia Noctilionidae a las dos anteriores también ha sido reconocida desde hace tiempo, con base a sinapomorfías compartidas (p.e. Smith 1972), de modo que las tres han formado tradicionalmente la superfamilia Noctilionoidea (Koopman 1994). Las relaciones de Mystacinidae, Furipteridae, y Thyropteridae con las demás familias del infraorden de los Yangochiroptera han estado sujetas a gran debate. La hipótesis prevalenciente ha sido que están más cercanas a los Molossidae y Vespertilionidae, en la superfamilia Vespertilionoidea.

Sin embargo, la peculiaridad morfológica de los representantes de las familias en cuestión, y la poca atención sistemática que han recibido, así como la gran diversidad de los Vespertilionoidea, asociada a su gran radiación ecológica, todo unido a la rápida radiación de los murciélagos que ha dejado pocas sinamoporfias entre linajes familiares; han hecho difícil la aclaración de sus relaciones filogenéticas. Los datos moleculares indican que Mystacinidae, Furipteridae, Thyropteridae, Noctilionidae, Phyllostomidae y Mormoopidae están más cercanamente relacionados entre ellos que con otras familias de quirópteros.

La inclusión de Furipteridae y Thyropteridae en este grupo contrasta con las ideas tradicionales basadas en la importante consideración de caracteres de la estructura del ala y la articulación del hombro (Miller 1907, Smith 1976). Estos resultados sugieren que quizás estos caracteres tienen una historia diferente a la asumida anteriormente (Hofer *et al.* 2003). Por otro lado, la monofilia de Furipteridae, Thyropteridae, Noctilionidae, Phyllostomidae y Mormoopidae se corresponde con la evidencia biogeográfica y fósil. Los representantes actuales de todas estas familias son endémicos neotropicales (aunque algunos representantes de los Phyllostomidae y Mormoopidae han colonizado el extremo sur del Neártico), y todos los fósiles conocidos (de Noctilionidae, Phyllostomidae y Mormoopidae, ya que no existen de Furipteridae y Thyropteridae) también proceden de esta región (Czaplewski y Morgan 2002). La posición de la familia Neozelandesa Mystacinidae como hermana del ancestro común de todas las anteriores traza el origen de este linaje de quirópteros a tiempos anteriores a la disgregación de Gondwana (Teeling *et al.* 2003).

## CONCLUSIONES

### Relaciones Intrafamiliares.

Se puede concluir que hay cierta evidencia en favor de la monofilia de la familia, que no acaba de ser concluyente, y la cual sería importante corroborar incrementando el número de caracteres, ya sean secuencias de más genes (nucleares y/o mitocondriales) u otro tipo de caracteres.

Por otro lado, es importante realizar análisis filogenéticos con otros métodos de inferencia, tales como la máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana, que manejan de forma más eficiente el hecho de las múltiples sustituciones en la misma posición.

### Relaciones Interfamiliares.

Se puede concluir que con los datos analizados a este nivel taxonómico, se encuentra evidencia en favor de la monofilia de la superfamilia Noctilionoidea, sin embargo, no acaba de ser concluyente. Sería importante corroborar incrementando el número de caracteres, ya sean secuencias de más genes (nucleares y/o mitocondriales) u otro tipo de caracteres.

Al igual que en el caso de las relaciones intrafamiliares, es importante realizar análisis filogenéticos con otros métodos de inferencia, tales como la máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana, que manejan de forma más eficiente el hecho de las múltiples sustituciones en la misma posición.

## LITERATURA CITADA

Adams, K. J. (1989). *Pteronotus davyi*. Mammalian Species (346): 1-5.

Akamatsu, Y. y Oettinger, M. A. (1998). Distinct roles of RAG 1 and RAG 2 in binding the V(D)J recombination signal sequencens. Molecular and Celular Biology 18 (8): 4670-4678.

Arnold, M. L.; Honeycutt R. L.; Baker, R. J.; Sarich, V.M. y Jones, J. K. (1982). Resolving a phylogeny with multiple data sets: a systematic study of phyllostomoid bats. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University 77: 1–15.

Baker, R. J.; Porter, C. A.; Patton, J.C. y Van Den Bussche, R. (2000). Systematics of Bats of the family Phyllostomidae Based on RAG2 DNA sequences. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University (202): 1-16.

Beebee, T. y Rowe, G. (2004). An introduction to molecular ecology. Oxford University Press. E.U.A. 346 pp.

Czaplewski, N. J. y Morgan, G. S. (2002). Phyllostomid bats from the Oligocene and early Miocene of Florida, USA. Journal of Vertebrate Paleontology 22, supplement to 3: 48A.

Dalquest, W. W. y Werner, H.J (1954). Histological aspects of the faces of North American bats. Journal of Mammalogy. 35: 147–160.

De Luna, Efraín; Guerrero, A. José y Chef-Taracena, Tania (2005). Sistemática Biológica: avances y direcciones futuras en la teoría y los métodos de la reconstrucción filogenética. Hidrobiologica 15 (2): 1-18.

Douay, C. J. (2001). Molecular Phylogenetics of the insectivora. PhD. Thesis. Pág. 145-172.

Eguiarte, E. Luis; Souza V.; Nuñez-Farfán, J. y Hernández-Baños, B. (1997). El análisis filogenético: Métodos, problemas y perspectivas. Boletín de la Sociedad de Botánica de México 60: 169-181.

Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

Fetzner, J. W. (1999). Extracting High-Quality DNA from Shed Reptile Skins: A Simplified Method. *BioTechniques* 26: 1052-1054.

Galtier, N.; Gouy, M. y Gautier, C. (1996). SEAVIEW and PHYLO\_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 543-548.

GenBank. [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) (revisado el 29 de septiembre de 2005)

Geisler, J. H. y Uhen, M. D. (2003). Morphological support for a close relationship between Hippos and whales. *Journal of Vertebrate Paleontology* 23(4): 991-996.

Giribet, G. y Wheeler, C. W. (1999). On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13(1): 132-143.

Gray, J. E. (1839). Descriptions of some Mammalia discovered in Cuba by W. S. MacLeay, Esq. *Annals of Natural History* 4: 1-7.

Gutell, R. R.; Larsen, N.; Woese, C.R. (1994). Lessons from an evolving rRNA: 16S and 23S rRNA structures from a comparative perspective. *Microbiology Review* 58: 10-26

Herd, R. M. (1989). *Pteronotus parnelli*. *Mammalian Species* (209): 1-5.

Hillis, D. M. y Huelsenbeck, J. P. (1992). Signal, Noise, and Reliability in Molecular Phylogenetic Analyses. *Journal of Heredity*. 83: 189-195.

Hillis, D. M.; Mable, B. K.; Larson, A.; Davis, S. K. y Zimmer, E. A. (1996a). Chapter 9, Nucleic acids IV: sequencing and cloning. Pp. 321-381, En: *Molecular Systematics* Hillis, D. M.; Moritz, C. y Mable, B. K. , Editores. Sunderland Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.

Hillis, D. M.; Moritz, C. y Mable, B. K., Eds. (1996b). *Molecular Systematics*. Sunderland, Sinauer Associates, Inc.

Honeycutt, R. L. (1981). *Molecular evolution in New World leaf-nosed bats of the family Phyllostomidae with comments on the superfamily Noctilionoidea*. Ph.D. diss, Texas Tech Univ., Lubbock.

Hoofer, S. R.; Reeder, S. A.; Hansen, E. W. y Van Den Bussche, R. A. (2003). *Molecular phylogenetics and taxonomic review of noctilionoid and vespertilionoid bats (Chiroptera : Yangochiroptera)*. *Journal of Mammalogy* 84 (3):809-821.

Huchon, D.; Catzeflis, F. M. y Douzery, E. J. P. (1999). *Molecular evolution of the nuclear von Willebrand factor gene in mammals and the phylogeny of rodents*. *Molecular Biology and Evolution* 15(5):577-589.

Jin, L. y Nei M. (1990). *Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis*. *Molecular Biology and Evolution* 7(1): 82-102.

Kennedy, M.; Paterson, A. M.; Morales, J. C.; Parsons, S.; Winnington, A. P. y Spencer, H. G. (1999). *The Long and Short of It: Branch Lengths and the Problem of Placing the New Zealand Short-Tailed Bat, *Mystacina**. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13(2):405-416.

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

Kirsch, J. A. W.; Hutcheon, J. M.; Byrnes, D.G.P. y Lloyd, B. D. (1998). *Affinities and Historical Zoogeography of the New Zealand Short-Tailed Bat, *Mystacina tuberculata* Gray 1843, Inferred from DNA-Hybridization Comparisons*. *Journal of Mammalian Evolution*. 5(1):33-64.

Koopman, F.K. (1994). *Chiroptera: Systematics*. Walter de Gruyter. pág. 217

Kösxl, M.; Mayer, F.; Frank, G.; Faulstich, M. y Russell, I. J. (1999). *Evolutionary adaptations of cochlear function in Jamaican mormoopid bats*. *Journal of Comparative Physiology A* (185):217-228.

- Leach, R. P. (1821). The characters of three new genera of bats without foliaceous appendages to the nose. *Transactions of the Linnean Society*. 13: 69–72.
- Lewis-Oritt, N., Porter C. A. y Baker, C. A. (2001). Molecular Systematics of the Family Mormoopidae (Chiroptera) Based on Cytochrome b and Recombination Activating Gene 2 Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20(3):426-436.
- Maddison, D. R.; Swofford, D. L. y Maddison, W. P. (1997). Nexus: An extensible file format for systematic information. *Systematic Biology* 46(4): 590-621
- Miller, G. S. (1907). The families and genera of bats. *U.S. National Museum Bulletin*. 57:1-282
- Meyer, A. (1994). Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. *TREE* 9(8): 278-279.
- Neuweiler, G. (2000). *The biology of bats*. Oxford & New York, Oxford University Press.
- Novacek, M. J. (1991). Aspects of morphology of the cochlea in microchiropteran bats: An investigation of character transformation. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 206:84-100.
- Page, M. D. R. y Holmes, C. E. (1998). *Molecular Evolution*. Blackwell Science. Malden, USA. Pág. 147.
- Palumbi, S. R. (1996). Chapter 7, *Nucleic acids II: the polymerase chain reaction*. Pp. 205-247, En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., Moritz, C. y Mable, B. K., Editores. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.
- Patton, J. C. y Baker, R. J. (1978). Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoid bats. *Systematic Zoology*. 27:449–462.
- Pierson, E. D. (1986). *Molecular systematics of the Microchiroptera: higher taxon relationships and biogeography*. Ph.D. Univ. California, Berkeley.

Seutin, G.; White, B. N. y Boag P. T. (1991). Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology* (69): 82-90.

Schluter, S. F. y Marchalonis, J. J. (2003). Cloning of shark RAG2 and characterization of the RAG1/RAG2 gene locus. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. Enero.

Simmons, N. B. (1998). A reappraisal of interfamilial relationships of Bats. pp. 3-26. En: *Bat Biology and Conservation*. Kunz, T. H. y Racey, P. A., Editores. Smithsonian Institution Press.

Simmons, N. B. y Conway, T. M (2001). Phylogenetic Relationships Of Mormoopid Bats (Chiroptera: Mormoopidae) Based On Morphological Data. *Bulletin Of The American Museum Of Natural History* (258):1-96.

Smith, J. D. (1972). Systematics of the chiropteran family Mormoopidae. University of Kansas, Museum Natural History Misc. Pub. 56

Smith, J. D. (1976). Chiropteran evolution. In *Biology of Bats of the New World Family Phyllostomidae, Part I*, Baker, R.J.; Jones, J.K. y Carter, D.C. Edit. Pág. 49-69. Special Publications, No. 10, The Museum, Texas Tech University.

Springer, M. S. y Douzery, E. J. P.(1996). Secondary Structure and patterns of evolution among mammalian mitochondrial 12s rRNA molecules. *Journal of Molecular Evolution* 43: 357-373.

Springer, Mark S.; Madsen, Ole; De Jong, Wilfried W.; Stanhope, Michael J. y Douady, J. Christophe (2004). The use of composite taxa in supermatrices. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30:883-884

Springer, Mark S.; Teeling, Emma C.; Madsen, Ole; Stanhope, Michael J. y De Jong, Wilfried W. (2001). Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. *Proceedings of the National American Sciences (PNAS)* 98 (11):6241-6246

Swofford, D. L. (1999). PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Teeling, E. C.; Madsen, O.; Murphy, W. J.; Springer, M. S. y O'Brien, S. J. (2003). Nuclear gene sequences confirm an ancient link between New Zealand's short-tailed bat and South American noctilionoid bats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* (28):308-319.

Thompson, J. D.; Gibson, T.J.; Plewniak, F.; Jeanmougin, F. y Higgins, D.G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24:4876-4882.

Thotakura, S. R.; Karthikeyan, N.; Smith, T.; Liu, Kai y George, A. (2000). Cloning and Characterization of Rat Dentin Matrix Protein 1 (DMP1) Gene and Its 5\*-Upstream Region\*. *The Journal Of Biological Chemistry* 275(14): 10272–10277.

Van Den Bussche, R., y Hofer, S. R. (2000). Further evidence for the inclusion of the New Zealand short-tailed bat (*Mystacina tuberculata*) within Noctilionoidea. *Journal of Mammalogy* (81):865–874.

Van Den Bussche, R., y Hofer, S. R. (2001). Evaluating Monophyly of Nataloidea (Chiroptera) with Mitochondrial DNA Sequences. *Journal of Mammalogy* 82(2):320-327.

Van Den Bussche, R., Hofer, S. R. y Simmons, N. B. (2002a). Phylogenetic relationships of Mormoopids bats using mitochondrial gene sequences and morphology. *Journal of Mammalogy* 83(1):40-48.

Van Den Bussche, R. A., Hofer, S. R. y Hansen, E. W. (2002b). Characterization and Phylogenetic Utility of the Mammalian Protamine P1 Gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22(3):333-341.

Van Den Bussche, R. A., Reeder, S. A., Hansen, E. W. y Hofer, S. R. (2003). Utility of the dentin matrix protein 1 (DMP1) gene for resolving mammalian intraordinal phylogenetic relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*(26):89-101.

Van Den Bussche, R. A. y Weyandt, S. E. (2003). Mitochondrial and nuclear sequence data provide resolution to sister-group relationships within Pteronotus (Chiroptera: Mormoopidae). *Acta Chiropterologica* 5(1):1-13.

Van Valen, L. (1979). The Evolution of bats. *Evolutionary Theory* 4:104-121.

Vaughan, T. A., Ryan, J. M. y Czaplewski, N. (2000). *Mammalogy*. 4ta Edición. Brooks Cole, EUA. 672 pág.

Werman, S. D.; Springer, M. S. y Britten, R. J. (1996). Chapter 6, Nucleic acids I: DNA-DNA Hybridization. *Molecular Systematics*. Hillis, D. M.; Moritz, C. y Mable, B. K. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.: 169-203.

Zardoya, R. y Meyer, A. (1996). Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution* 13(7): 933-942.