



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES IZTACALA



El efecto del Istmo de Tehuantepec en la  
estructura y diversidad genética de *Carollia*  
*sowellii* (Chiroptera: Phyllostomidae) en México

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGO

PRESENTA:

EDUARDO BADILLO GUZMÁN

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Livia S. León Paniagua.

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de  
México, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 académicos

A la Dra. Livia por dejar que hiciera la tesis en su laboratorio, además de todas las facilidades con las que me apoya para la realización de esta tesis.

A la Dra. Verónica Farías, Dr. Raul Cueva del Castillo y al Dr. Jorge Ciros por haber aceptado ser mi revisores y gracias a sus observaciones la tesis quedo lo mejor posible.

También a la Dra. Consuelo Lorenzo y al Técnico Jorge Eduardo Bolaños del ECOSUR. Al Dr. Miguel Ángel Briones, M. en C. Natalia Martin Regalado y M. en C. Mario C. Lavariaga del CIIDIR Oaxaca por la donación de tejidos para una mejor realización de resultados.

Gracias al proyecto del CONACyt No. 239482 por financiar este trabajo que estuvo a cargo de la Dra. Livia León Paniagua.

## Agradecimientos personales.

A mi madre Mónica Guzmán y a mi padre Marco A. Badillo sin su apoyo y consejos no hubiera llegado hasta aquí, los quiero. A mis hermanos Marco y Xitlalli que con sus burlas y apoyo no hubiera terminado este gran logro.

A mis tíos y tías los cuales me han apoyada y dieron consejos para que siguiera estudiando. A mis primos con los he pasado ratos divertidos.

A los amigos de la casa: Toño, Juan, Jaime, Ricardo, Daniel, Cristian, Abraham, Jorge con los que he pasado cosas graciosas, con sus burlas y consejos he terminado la carrera.

A los amigos de la escuela: Ale, Karen, Fer, Diana, Rodrigo, Oscar, Brayan, Toño y Efraín los cuales me enseñaron que es bueno trabajar en equipo para que todo salga bien además de las buenas prácticas de campo que tuvimos juntos.

A los amigos del CCH Naucalpan Nancy, Aldo, Sergio y Raúl con los cuales tuve buenos momentos. También quiero agradecer a Don Cayetano el cual siempre me dio buenos consejos para que continuara estudiando.

A los amigos del cubil de Mastozoología en especial a la Dra. Livia, Dra. Zamira, Biól. Giovani, Biól. Yire, Biól. Martín, Est. Lorena y Est Caro carollia los cuales me ayudaron en el laboratorio y a procesar los resultados para que terminara la tesis.

## Resumen

**Introducción:** Una barrera se define como una característica biótica o abiótica que restringe total o parcialmente el movimiento de genes o de individuos de una población o localidad a otra. El Istmo de Tehuantepec sufrió cambios geológicos y climáticos del Mioceno hasta el Pleistoceno este ha actuado como barrera para diferentes especies de roedores, murciélagos, aves, anfibios y reptiles, en algunos casos separando a las poblaciones ancestrales y formando nuevas especies, en otras no actuó como barrera y en especies de murciélagos está ocurriendo la división de las poblaciones. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del Istmo de Tehuantepec en la diversidad y estructura genética de *Carollia sowelli*.

**Resultados:** Se analizaron 67 secuencias del citocromo b del mismo número de individuos de 44 localidades diferentes con los resultados del árbol filogenético y la red de haplotipos se observa que el Istmo no actúa como barrera para esta especie y de acuerdo a los resultados relacionados con la estructura genética de esta especie tanto la distancia genética como las  $F_{ST}$  indican que hay mayor flujo entre poblaciones cercanas respecto a la población total. De acuerdo con la hipótesis de que esta especie se diversificó en Centroamérica y que extendió su distribución hasta México debió de haber habido individuos de esta especie en refugios pleistocénicos o poblaciones ya establecidas en México debido a que cuando emergió el Istmo formó diferentes nichos ecológicos a ambos lados del Istmo debido a los cambios climáticos y a inundaciones.

**Conclusiones:** Para *C. sowelli* el Istmo no es una barrera ya que no hay una separación clara de las poblaciones al este y oeste debido a que no se forman grupos monofiléticos, esto se corrobora con los árboles filogenéticos y con la red de haplotipos además con los valores de distancia genética y los valores de la  $F$ ; esta especie puede estar presentando una divergencia la cual no lleva muchos años para que se observen las poblaciones separadas. Se deben de realizar estudios de morfometría para comprobar si existe la separación por parte del Istmo ya que con datos moleculares no se apoya esta hipótesis.

## Índice

<b>I. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1.1 El efecto del Istmo de Tehuantepec en la biota</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Orden Chiroptera</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Diversidad genética y estructura genética</b>	<b>7</b>
<b>1.3.1 Estimados de la diversidad genética</b>	<b>8</b>
<b>1.3.2 La pérdida y ganancia de la diversidad genética</b>	<b>9</b>
<b>1.3.3 Estadísticos F de Wright</b>	<b>9</b>
<b>1.3.4 Distancia genética</b>	<b>10</b>
<b>1.4 Herramientas moleculares</b>	<b>10</b>
<b>II. Objetivos</b>	<b>12</b>
<b>III. Materiales y métodos</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Obtención de muestras</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Extracción de ADN</b>	<b>13</b>
<b>3.3. Análisis</b>	<b>13</b>
<b>IV. Resultados</b>	<b>14</b>
<b>4.1. Relaciones filogenéticas</b>	<b>14</b>
<b>4.2. Diversidad genética</b>	<b>15</b>
<b>V. Discusión</b>	<b>19</b>
<b>5.1. Relaciones filogenéticas</b>	<b>19</b>
<b>5.2. Istmo de Tehuantepec</b>	<b>20</b>
<b>5.3. Estructura genética</b>	<b>21</b>
<b>VI. Conclusiones</b>	<b>23</b>
<b>VII. Literatura citada</b>	<b>24</b>
<b>VIII. Apéndices</b>	<b>30</b>

## Introducción

El Istmo de Tehuantepec (IT) se sitúa en la parte oriental de los estados de Oaxaca y Veracruz, así como en la región occidental de Tabasco y Chiapas (Huidobro *et al.*, 2006). Es un estrecho continental con una colina central que cae de los 2000 a los 200 m (Barrier *et al.*, 1998). En esta región confluyen las dos zonas biogeográficas que se encuentran en México, la Neártica y la Neotropical (López *et al.*, 2009). El levantamiento del Istmo empezó en el Mioceno tardío hace aproximadamente 6 Ma. Esto fue debido a fallas en la placa de Cocos y la placa del Caribe, además del desarrollo del Golfo de México que cedió la formación del Istmo (Barrier *et al.*, 1988).

### 1.1 El efecto del Istmo de Tehuantepec en la biota

Durante las glaciaciones del Pleistoceno el Istmo de Tehuantepec fue una barrera para la dispersión de especies debido a los cambios geológicos, climáticos y ambientales significativos que ocurrieron (López *et al.*, 2009), ocasionando que existan diferentes nichos ecológicos en esta área (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2011). Esto se refleja en altos niveles de endemismo, por ejemplo se reconocen 35 especies de mamíferos endémicos en esta área (Escalante *et al.*, 2007). Además esta región representa una barrera biogeográfica para las biotas de montaña incapaces de atravesar las tierras bajas (Pérez-García *et al.*, 2001). En esta región existe una alta tasa de especiación entre especies de aves, mamíferos y mariposas debido a la existencia de diferentes nichos ecológicos (Peterson *et al.*, 1999).

Los resultados obtenidos con genes mitocondriales y nucleares de las aves del género *Icterus* (*I. graduacauda* e *I. chrysater*) muestran que el Istmo es una fuerte barrera para el flujo de genes y fragmentó la población ancestral y la aisló el tiempo suficiente como para que diverjan los linajes (Cortés-Rodríguez *et al.*, 2013), esta separación ocasionada por el Istmo también ocurrió en el colibrí *Campylopterus curvipennis* (González *et al.*, 2011). Para algunas aves es una barrera y un corredor para las aves migrantes entre Norte y Sudamérica (Rodríguez, 2007).

Esta región representa una zona de contacto o corredor biológico entre las vertientes atlántica y pacífica que se ha identificado en plantas vasculares (Pérez-García y Meave, 2006). En el caso de los pinos *Pinus ayacahuite* var. *ayacahuite* el Istmo actúa como barrera entre los pinos de las montañas de Oaxaca y los pinos de las tierras altas de Chiapas, pero antes de que este emergiera el Istmo, existía conexión entre estas poblaciones (Ortiz-Medrano *et al.*, 2008).

Asimismo, el Istmo fragmenta los bosques de neblina a lo largo de la Sierra Madre Oriental de aquellos de la Sierra Madre de Chiapas en la vertiente del Pacífico los dos últimos separados por una depresión central (Mulcahy *et al.*, 2006). Además separa las tierras altas del sur de México (Sierra Madre Oriental y S. M. del Sur) con las tierras altas de Chiapas-Guatemala (Castoe *et al.*, 2009).

El Istmo actuó como barrera vicariante al producir la diferenciación de una población ancestral de la planta *Palicourea padifolia*, debido a ausencia de flujo génico en las épocas glaciares del Pleistoceno medio, encontraron una mayor diferenciación al lado este y oeste del Istmo (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2011).

Algo semejante ocurre en tres géneros de serpientes (*Atropoides*, *Cerrophidion*, *Bothriechis*) debido a que el Istmo ocasionó una divergencia simultánea compartida a mediados del Plioceno. El Istmo junto con las tierras altas de Chiapas llevaron a la vicarianza a los antepasados de *B. rowleyi* y *B. aurifer* (Castoe *et al.*, 2009).

Para el caso de mamíferos se ha demostrado para el murciélago *Pteronotus davyi* que existe una clara diferenciación genética a ambos lados del Istmo, pero todavía existen haplotipos presentes en los dos lados lo que impide que se formen grupos monofiléticos (Guevara-Chumacero *et al.*, 2013). En *C. sowelli* no hay estudios donde se demuestre si el Istmo actúa como barrera para ésta especie, el trabajo realizado por Hoffmann y Baker, 2003 ellos demuestran que el Istmo de Panamá actúa como barrera para ésta especie, pero no poner a prueba si el Istmo de Tehuantepec divide a las poblaciones actuando como barrera.

Sullivan *et al.* (2000) demuestran que el Istmo es una barrera para los roedores *Reithrodontomys sumichrasti*, *Peromyscus aztecus* y *P. hylocetes* de tierras altas con una diferenciación genética de 5-8%. En la especie *R. sumichrasti* las poblaciones trans-ístmicas representa un linaje distinto, esto con resultados a partir del citocromo b, esto no se corrobora con datos morfológicos y marcadores nucleares. También para roedores del género *Habromys* se ha demostrado que el Istmo es una barrera (León-Paniagua *et al.*, 2007).

Espinoza *et al.* (2006) realizaron un análisis filogenético del género *Tylomys* y de la especie *P. zarhynchus* cuya distribución de estas especies es al sur de México. Ellos explican que la radiación de las subfamilias que contienen a este género y esta especie se

debe a que los ejemplares provenientes de la Península de Yucatán ya no pudieron ir más al norte debido al Istmo de Tehuantepec y que para las especies de Chiapas, en éste caso la Sierra Madre de Chiapas actuó como puente para la conexión de las especies de Centro y Sudamérica.

## 1.2 Orden Chiroptera

El orden Chiroptera es el segundo orden más diverso de los mamíferos, superado en número de especies sólo por los roedores. Existen alrededor de 1,116 especies reconocidas dentro de 18 familias (Medellín *et al.*, 2008). Se distribuyen prácticamente en todo el mundo, con excepción de las regiones más frías de las cumbres de las montañas y los polos. México es el sexto país a nivel mundial en cuanto se refiere al número de especies con 138 (Medellín *et al.*, 2008).

Debido a su abundancia los murciélagos son un grupo que juega un papel importante en la estructura y función de los ecosistemas, ya que consumen miles de toneladas de insectos anualmente, polinizan y dispersan las semillas de plantas en zonas áridas y tropicales (Ceballos y Oliva, 2005).

En México la familia Phyllostomidae comprende el mayor número de especies con más de 160 todas ellas endémicas del continente americano. Se dividen en subfamilias, las cuales presentan diferentes formas de alimentación: Phyllostominae son carnívoros; Glossophaginae son principalmente nectarívoros pero también insectívoros y frugívoros; Carollinae y Stenoderminae son principalmente frugívoros pero también insectívoros y nectarívoros; Desmodontinae son hematófagos; Brachyphyllinae son principalmente nectarívoros pero también insectívoros y frugívoros (Fleming, 1988; Baker *et al.*, 2012).

La subfamilia Carollinae sólo cuenta con el género *Carollia*. Anteriormente se agrupaba a *Carollia* con el género *Rhinophylla*, pero este grupo hermano se separó de la subfamilia debido a evidencias genéticas (Solari y Martínez-Arias, 2014). La subfamilia está integrada por 8 especies que se caracterizan por tener el arco zigomático incompleto, presencia de cola corta, dentición de tamaño reducida y cuatro bandas de color en el pelo. Presentan dos periodos reproductivos por año en las temporadas de sequía y al comienzo de la temporada de lluvias con una cría por hembra (Fleming, 1988; Cosson y Pascal, 1994; Lim y Engstrom, 1998; López-Aguirre *et al.*, 2015).



El número cromosómico en *Carollia* es estable ( $2n= 20$  para hembras,  $2n= 21$  para machos) y se ha mantenido a lo largo de siete millones de años, aunque cambia en las especies que recientemente se descubrieron (Baker, y Bleier, 1971; Noguera-Urbano y Muñoz-Montenegro, 2014). A diferencia de *Rhinophylla* el género *Carollia* tiene un antebrazo de mayor tamaño (34-45 mm, contra 29-38 mm), cola corta, hocico más largo, molares más amplios (McLellan y Koopman, 2007). Este género comparte afinidades con Glossophaginae en la morfología de los dientes, cariotipo, inmunología y anatomía de la lengua. Con Stenoderminae comparte las afinidades de anatomía reproductiva de la hembra, cromosomas sexuales múltiples en machos y con Phyllostominae un cráneo similar (Fleming, 1988).

Estas especies son difíciles de identificar utilizando caracteres morfológicos ya que son muy parecidas morfológicamente entre las poblaciones simpátricas de especies cercanas (*C. brevicauda* y *C. perspicillata* a lo largo de su distribución) éstas son más parecidas que las poblaciones alopátricas (*C. subrufa* no está parecida con *C. brevicauda* y *C. perspicillata* en las poblaciones de México) pero con la medición del largo del cráneo se pueden identificar las especies, en este género los machos son más grandes que las hembras además de que los individuos del norte, son más grandes que los individuos del sur (McLellan, 1984). El centro de origen del género *Carollia* fue Centroamérica y a partir de ahí está aumentando la distribución de cada especie (McLellan, 1984). Esto concuerda con lo propuesto por Hoffman y Baker (2003) proponen que las especies *C. brevicauda*, *C. perspicillata*, *C. sowellii* y *C. subrufa* su centro de origen fue en Centroamérica y que empieza a expandirse hacia América del Norte. Estimaron el tiempo de divergencia del género *Carollia* el cual fue hace 1 a 4.5 Ma esto concuerda con el levantamiento de los Andes y del Istmo de Panamá. Lim y Engstrom (1998) concluyen que *C. castanea* es el miembro basal del género y esta habita en Sudamérica.

En un trabajo con datos morfológicos y variables ambientales encontraron que a *C. castanea* le afecta las bajas temperaturas y las altitudes altas, esto limita a esta especie a que amplíe su distribución (Jarrín-V y Menendez-Guerrero, 2011). Además en estas especie puede haber hibridación entre *C. subrufa* y *C. brevicauda* esto con morfometría tradicional debido a que existe una morfología intermedia entre estas especies en las poblaciones del norte de Chiapas, sureste de Oaxaca, en el área del Istmo de Tehuantepec y el norte de Guatemala (Owen *et al.*, 1984).

Las especies del género *Carollia* se distribuyen desde el centro de México hasta el norte de Argentina (Cuartas *et al.*, 2001). Son muy abundantes y se les encuentra en

bosques secundarios con diferentes grados de perturbación (López *et al.*, 2009; Novoa *et al.*, 2011). Estos murciélagos habitan en bosque seco tropical hasta bosque húmedo de montaña menos en zonas áridas, con registros altitudinales que van desde el nivel del mar hasta los 3000 m snm (McIellan, 1984; Cuartas *et al.*, 2001). Viven en colonias de (100 a 1000) en cuevas, árboles huecos y estructuras, comen por temporada de 5 a 12 especies de *Piper*. Se alimentan de frutos de plantas que crecen en el sotobosque, ya que en este estrato se concentra la mayor parte de los frutos que consume. Estos murciélagos mediante la ecolocalización y el olfato detectan la fruta, la cual después de la colecta la llevan a un lugar donde la ingieren, este lugar está a una distancia de 20 a 100 m de la planta, la fruta es ingerida en 3 minutos y estos murciélagos colectan otra fruta dentro de los 15 a 30 minutos siguientes (Fleming, 2004).

El género *Carollia* presenta un sistema de reproducción poligínico, hay harems en los cuales el macho adulto defiende el territorio, los machos adultos en el día buscan alimento y en la noche regresan a cuidar los harems (Fleming, 1998). Los períodos de gestación duran entre 113 a 115 días y cuando existen problemas en la temperatura los períodos son de 113 a 143 días (Rassweiler y Badwaik, 1997).

Asimismo, el único trabajo que integre cuestiones genéticas y biogeográficas lo realizaron Hoffmann y Baker (2003) con el género *Carollia*. Los valores de diversidad nucleotídica reportados son bajos para éstas especies (*C. castanea*, *C. subrufa*, *C. brevicauda*, *C. perspicillata* y *C. sowellii*) concluyen que Istmo de Panamá actúa como barrera para *C. sowellii*.

Este estudio se centra en *C. sowellii* Baker *et al.* 2002. *C. sowellii* tiene poco pelo en el antebrazo, ya que en *C. perspicillata* es más abundante. El antebrazo mide menos de 41 mm, la longitud de la tibia mide entre 16-19mm (Lorenzo *et al.*, 2015); el pelo del cuerpo es largo, denso y suave, el color varía tanto en el vientre como en el dorso de pardo canela, gris oscuro a moreno grisáceo. Tiene cuatro bandas de color en el pelo de la región dorsal. La banda de la base y la subterminal son oscuras, la segunda banda y la última son claras. El rostro es más alargado que en *C. subrufa* con verrugas redondeadas al frente del labio inferior. El cráneo es robusto y posee un arco cigomático incompleto. Su fórmula dentaria es I 2/2, C 1/1, PM 2/2, M 3/3 = 32 (Téllez-Girón, 2005). Se refugia en cuevas, túneles, huecos de árboles, debajo de las hojas de los plátanos e alcantarillas con otras especies (Lorenzo *et al.*, 2015).

En un trabajo se mencionaba que *C. brevicauda* se tenía que dividir en dos especies debido a que formaban dos clados distintos en diferentes zonas, uno para Guatemala y el

otro para Perú (Wright *et al.*, 1999). *C. sowellii* fue descrita como nueva especie por Baker *et al.* 2002 debido a las diferencias nucleotídicas del citocromo b, diferencias craneales y a la distancia genética entre *C. sowellii* y *C. brevicauda*. Antes se describía que *C. brevicauda* se distribuía desde Bolivia y Brasil hasta el centro de México. Con la descripción de *C. sowellii* como nueva especie, su distribución abarca desde el centro de México hasta el este de Panamá y para *C. brevicauda* es del oeste de Panamá hasta Brasil.

*C. sowellii* se encuentra desde los 0 hasta los 2,400 m snm desde México en los estados de Veracruz y San Luis Potosí en la vertiente atlántica y en el estado de Oaxaca, en la vertiente del Pacífico atravesando el Istmo de Tehuantepec hasta Panamá encontrándose en bosque tropical húmedo, perennifolio, bosque tropical caducifolio y en vegetación secundaria (Fig. 1; Téllez-Girón, 2005; Lorenzo *et al.*, 2015). Su alimentación se basa en higos silvestres (*Ficus* spp.), pimientas (*Piper* spp.), solanáceas (*Solanum* spp.), guarumos (*Cecropia* spp.), insectos pertenecientes a los órdenes Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Trichoptera (Téllez-Girón, 2005; York y Billings, 2009; Voigt *et al.*, 2012; Saldaña-Vázquez *et al.*, 2013; Vleut *et al.*, 2015).



**Figura 1. Distribución de *Carollia sowellii* (tomada de: <http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=136268>).**

Las variaciones en la dieta de estas especies puede deberse a las diferencias de comportamiento de alimentación y al tamaño en las especies de *Carollia* (Saldaña-Vázquez *et al.*, 2013). Existe una especialización alimenticias dentro del género *Carollia*, algunas especies consumen un mayor número de frutos de *Piper* debido a que tolerarán sus compuestos químicos (Whitehead *et al.*, 2015). Los frutos representan un excelente alimento debido al alto contenido en nitrógeno (Fleming, 1991; Whitehead *et al.*, 2015).

*Piper* tiene un sistema de dispersión especialista en la cual la planta produce pocos frutos ricos en nutrientes para dispersores especializados (Kraker, 2008). Los frutos de *Piper* y *Solanum* contienen más nitrógeno (proteína) en la pulpa que otros frutos, por eso estos frutos son consumidos por las especies del género *Carollia* y otros filostómidos, pero también consumen los frutos de *Cecropia peltata* que son bajos en nitrógeno pero contiene carbohidratos y son altos en fibra, además consumen insectos para complementar las cantidades de nitrógeno (proteína) faltante (Herbst, 1986; Fleming, 1991).

En un trabajo realizado en Guatemala se encontró que la similitud en la dieta de *C. sowellii* y *C. perspicillata* resultó por arriba del 90% en dos sitios muestreados. Existe traslape de recursos para estas especies pero existen diferencias en el consumo y abundancia de frutos, ya que la diversidad de la dieta de *C. sowellii* es mayor que la de *C. perspicillata*, lo cual esto evita la competencia entre estas las dos especies (Kraker, 2008).

En otro trabajo con *C. perspicillata* no encontraron solapamiento entre las áreas de forrajeo de los diferentes individuos ya que utilizan las mismas áreas de forrajeo. Una selección óptima de la zona de forrajeo puede determinar un mayor tamaño en *Carollia*. Estas áreas de forrajeo se encuentran a una distancia de 200 a 500 m, de las perchas y a una distancia de 15 a 50 m del alimento. En el amanecer existe poca búsqueda de alimento ya que evitan ser atrapados por los depredadores (Heithaus y Fleming, 1978). Además las diferencias morfológicas que existe dentro del género *Carollia* podría indicar procesos de especiación (López-Aguirre *et al.*, 2015).

En el caso de las hembras de *C. sowellii* almacenan más grasa que los machos en periodos de poca actividad reproductiva, estas reservas de grasas se ocupan en la época reproductiva donde es la época de mayor alimento (Mora, 2013). Se reportan a hembras preñadas y lactando desde marzo hasta julio (Lorenzo *et al.*, 2015).

### **1.3 Diversidad genética y estructura genética**

La diversidad genética es la variedad de alelos y genotipos presentes en un grupo (poblaciones, especies o grupo de especies). Sobre esta diversidad actúa la selección natural y otras fuerzas evolutivas para que se de la evolución frente a cambios ambientales (Frankham *et al.*, 2004).

La estructura genética se define como la diferenciación genética de las poblaciones. Esto puede deberse a barreras físicas que restringen el flujo génico (Romero-Nava *et al.*,

2013). Debido a que existen diferencias en las frecuencias alélicas entre las poblaciones hay estructura genética. Cuando se dice que una especie tiene una alta estructura genética es debido a que se pueden detectar fuertes diferencias en las frecuencias alélicas y si se tiene una baja estructura genética es debido a que las poblaciones que la constituyen son casi idénticas con nulas o muy pocas diferencias en las frecuencias alélicas (Eguiarte *et al.*, 2015). La estructura genética del género *Carollia* está determinada por la demografía de las poblaciones, el sistema de apareamiento, conductas de alimentación y los patrones de dispersión (Fleming, 1988).

Los estadísticos F de Wright o sus análogos que permiten comparar de manera clara y cuantitativa las diferentes especies respecto a su estructura genética de las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 2015).

### **1.3.1 Estimados de la diversidad genética**

- Diversidad alélica (A): es el número promedio de alelos por locus en una población (Frankham *et al.*, 2004; Freeland *et al.*, 2011).
- Proporción de loci polimórficos (P): se calcula dividiendo el número de loci polimórficos entre el total de loci examinados (Russell, 2010).
- Diversidad nucleotídica ( $\pi$ ): está determinada por número promedio de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias (Hedrick, 2011).
- Heterocigosis ( $H$ ): proporción de heterocigotos en una población medida en varios loci genéticos. Se puede medir como heterocigosis esperada ( $H_e$ ) es el número de heterocigosis esperados en la población con apareamientos aleatorios en equilibrio Hardy-Weinberg, o en heterocigosis observada ( $H_o$ ) es el número de individuos en la población que son heterocigotos en ese locus (Frankham *et al.*, 2004; Russell, 2010).
- Diversidad haplotípica ( $h$ ): es la probabilidad de que dos haplotipos tomados al azar sean diferentes (Freeland *et al.*, 2011).
- Número de sitios segregantes (S): nucleótidos diferentes en una secuencia (Hedrick, 2011).
- D de Tajima: compara el número de sitios segregantes y la media del número de diferencias nucleotídicas estimadas por parejas de secuencias del DNA comparándola dentro de una población (Avice, 2004).

### 1.3.2 La pérdida y ganancia de la diversidad genética está dada por

- Mutaciones: es cualquier cambio heredable resultado de una alteración en el material genético de un organismo (Verdú del Campo, 1997). Es la fuente principal de la diversidad genética introduciendo nuevos alelos a la población. Si la mutación es deletérea, la selección natural eliminara está mutación de la población (Hedrick, 2011).
- Flujo génico: intercambio de alelos entre poblaciones mediante migración esto ayuda a que se restaure la diversidad genética perdida. Las poblaciones contiguas posean una composición génica más semejante que las que están más alejadas geográficamente (Soler, 2003; Frankham *et al.*, 2004).
- Selección natural: es la causa principal de la evolución y adaptación de las poblaciones a su ambiente (Verdú del Campo, 1997).
- Endogamia: es producida al aparearse parientes cercanos y puede ocasionar el efecto conocido como depresión por endogamia, que es la reducción de la eficacia biológica de la descendencia debido a la expresión de alelos deletéreos por el aumento de la probabilidad de homocigosis (Verdú del Campo, 1997).

### 1.3.3 Estadísticos F de Wright

La variación genética de las poblaciones subdivididas debe examinarse en tres niveles: (I) dentro de las subpoblaciones, (S) subpoblaciones y (T) la población total como si no hubiera subdivisión (Hedrick, 2011), donde:

- $F_{IS}$ : Mide la reducción relativa de heterocigosidad dentro de las subpoblaciones y la población total. Si el resultado es positivo indica que hay deficiencia de heterocigotos y si es negativo el resultado indica un exceso de heterocigotos (Hedrick, 2011).  $F_{IS} = H_S - H_I / H_S$ .
- $F_{ST}$ : Medida de la diferenciación genética en las poblaciones, siempre es positiva (a veces negativos) (Hedrick, 2011). Mide la reducción en la heterocigosis debida a diferenciación genética entre poblaciones, si el valor es de 0, indica que las frecuencias alélicas son iguales en todas la poblaciones, no ha habido diferenciación ( $H_t = H_s$ ). El máximo posible es de 1, cuando cada población está fija en alelos diferentes ( $H_s = 0$ ) (Awise, 2004). Balance entre deriva y flujo génico (Piñero *et al.*, 2008).

$$F_{ST} = H_T - H_S / H_T$$

- $F_{IT}$ : Medida de la desviación del individuo promedio con respecto a la población total. Si el resultado es positivo indica que hay deficiencia de heterocigotos y es negativo el resultado indica un exceso de heterocigotos (Hedrick, 2011).

$$F_{IS} = H_T - H_I / H_T$$

Donde:

- $H_I$ : Heterocigosis observada en las subpoblaciones (Freeland *et al.*, 2011).
- $H_S$ : Heterocigosis esperada por H-W en las subpoblaciones ( $=H_e$ ) (Freeland *et al.*, 2011).
- $H_T$ : Heterocigosis esperada por H-W en la población total (Freeland *et al.*, 2011).

### 1.3.4 Distancia genética

Los índices de distancia genética se calculan entre pares de poblaciones y pretende describir el grado de diferencia genética entre estas poblaciones (Piñero *et al.*, 2008). La distancia genética puede identificar especies, se utiliza en análisis filogenéticos para ver los niveles de divergencia entre secuencias para compararlos con un clado de interés. En un trabajo realizado por Bradley y Baker, (2001), estimaron las distancias genéticas de murciélagos y roedores a partir del citocromo b, con el modelo evolutivo de Kimura dos parámetros (K2P; Kimura, 1980) un valor por debajo del 2% indica que se están comparando especies.

Hay varios aspectos que pueden afectar los resultados, incluyendo: a) un muestreo incompleto puede influir en resultados de divergencias entre secuencias, b) ver a qué nivel se van a trabajar las distancias genéticas (género y especie), c) la estructura reproductiva puede aumentar o disminuir este resultados (menores valores de distancia genética en especies filopátridas) y, d) diferente estructura social (Bradley y Baker. 2001).

### 1.4 Herramientas moleculares

Los marcadores moleculares se basan en el análisis de las diferencias en moléculas como proteínas, ARN y ADN con o sin función conocida que proporcionan información sobre la variación alélica y permite distinguir individuos (Cornejo *et al.*, 2014).

Para animales el marcador molecular más utilizado es el ADN mitocondrial (mtADN). Entre las características moleculares que hacen especial al mtADN están que es una molécula circular covalentemente cerrada, de tamaño pequeño (ca.16-20 kilobases),

conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia), 13 polipéptidos correspondientes a las 7 subunidades de la NADH deshidrogenasa (ND1 a ND6 y ND4l), 3 subunidades de la proteína citocromo c oxidasa (COI, COII y COIII), el citocromo b y dos subunidades de la ATP sintetasa (ATPasa 6 y 8). Además una región conocida, en vertebrados y equinodermos, como región control (ca. 1 kb) o d-loop (fragmento más pequeño dentro de la región control misma), que controla la replicación y transcripción en la molécula, además es un marcador haploide y sólo es heredado por vía materna (Chomyn *et al.*, 1985; Ballard y Whitlock, 2004; Eguiarte *et al.*, 2007; Tomasco y Lessa, 2015).

Dentro de la molécula del ADN mitocondrial (mtADN) se encuentra el citocromo b el cual ha sido utilizado para ver diferencias intraespecíficas en diferentes especies de murciélagos, roedores, lagartijas (Carranza, 2002; Lorenzo y García, 2007; Ramírez-Pulido *et al.*, 2014); además es una proteína transmembranal implicada en la oxidación de la ubiquinona (Esposti *et al.*, 1993). Se ha estimado a partir del ADNmt de mamíferos que el citocromo b presenta una tasa de sustitución de 2% por millón de años (Brown *et al.*, 1979).

Existe una alta saturación en la tercera posición del codón con una mayor alta transiciones que las demás posiciones, variación limitada en el primero y segundo codón, también ocurre una sustitución lenta en los aminoácidos (Meyer, 1994; Farías *et al.*, 2001). Las sustituciones en los aminoácidos causan transversiones en las primeras y segundas posiciones esto lleva a bajos niveles conservados y estas sustituciones en los residuos causa transiciones (Meyer, 1994).

También dentro del citocromo b se encuentran regiones y codones que evolucionan lento y rápidamente (Farías *et al.*, 2001). En el citocromo b, existen diferencias en el número de sustituciones de sus aminoácidos, esto permite la reconstrucción de las filogenias. En estudios se ha observado que las regiones que codificantes como los genes ribosomales, ATPasa 6 y 8 y las regiones no codificantes tienen una baja tasa de sustitución (Meyer, 1994). El citocromo b contiene (aproximadamente 1140 pb), se conocen de 9 a 10 proteínas que tiene función en el complejo III del sistema de fosforilación oxidativa de la mitocondria. El citocromo b se encuentra reducido en los complejos Q<sub>0</sub> y Q<sub>1</sub> involucrados en la transferencia de electrones (Irwin *et al.*, 1991).



## II. Objetivos

Objetivo general:

- Determinar el efecto del Istmo de Tehuantepec en los patrones de diversidad y estructura genética de *Carollia sowelli*.

Objetivos particulares:

- Comprobar si el Istmo de Tehuantepec es una barrera que divide a las poblaciones de *C. sowelli*
- Determinar los niveles de variación genética en *C. sowelli*.
- Proponer un proceso biogeográfico que ha influido en esta especie

## III. Materiales y métodos

### 3.1 Obtención de muestras

Las muestras provienen del material depositado en la Colección de Mamíferos del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (MZFC), de la Colección de Mamíferos del ECOSUR (ECO-SC-M) y CIIDIR Oaxaca (CIIDIR-O) (Apéndice B) (Fig. 2).

Se recolectaron ejemplares de *Carollia sowelli* en los estados de Campeche y Yucatán (Apéndice B). Estos ejemplares fueron capturados con redes de niebla y se prepararon como ejemplares de colección científica, se extrajeron muestras de tejidos (hígado, riñón, corazón, músculo) que fueron preservadas en alcohol al 100%.

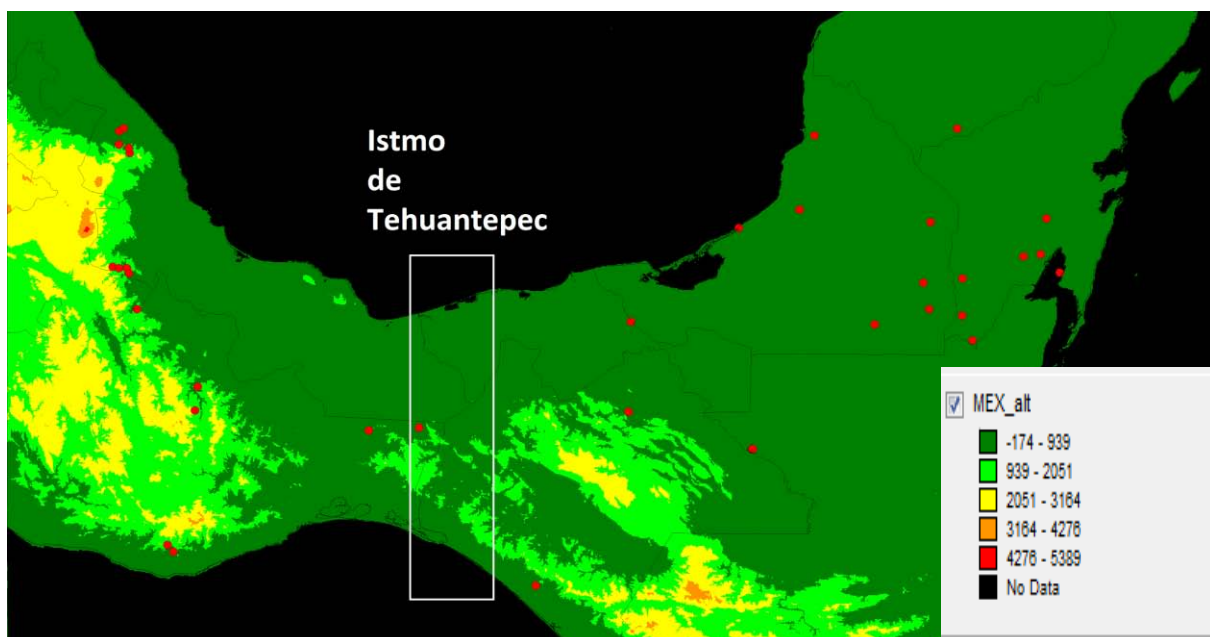


Figura 2. Los puntos rojos corresponden a localidades de los ejemplares utilizados en este estudio (Apéndice B).

### 3.2 Extracción de ADN

Se utilizó el protocolo modificado de NaCl-cloroformo: alcohol isoamílico para la extracción de ADN de tejidos (hígado, riñón, corazón, músculo) (Apéndice A; Miller *et al.*, 1988 como se detalla en Castella *et al.*, 2001). Se realizó la amplificación del gen mitocondrial citocromo b con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los oligonucleótidos L14724 (Irwin *et al.*, 1991), bat380F (Iudica, 2000), L15513 (Irwin *et al.*, 1991), bat420R (Iudica, 2000), H15547 (Edwards *et al.*, 1991), H15915R (Irwin *et al.*, 1991), para amplificar el gen en uno, dos o tres fragmentos con un protocolo de una desnaturalización inicial por 3 min a 95°C; seguida de 35 ciclos de tres pasos: desnaturalización inicial por 30 segundos a 95°C, seguida de una anillamiento de 1 min a 48 y/o 49°C, finalmente una extensión de 2 min por 72°C y terminando con una extensión final de 5 min a 72°C.

Se utilizó un volumen final de 12.5 µL por reacción donde: 7.325 µL de H<sub>2</sub>O, 1.25 µL de Buffer [10x], 0.825 µL de Mix dNTP's [2mM], 0.75 µL de MgCl<sub>2</sub> [25 mM], 0.625 µL de cada oligonucleótido [10 µM], 0.1 µL de polimerasa Taq [5u/µL] y 1 µL de ADN; durante cada ronda de PCR se trabajó con un control negativo para descartar la contaminación por ADN.

Posteriormente con 2.0 µL de estos productos se realizó la electroforesis en geles de agarosa TAE [1x] teñidos con Gel red (Probiotek) y se realizó la visualización para comprobar si la PCR salió correcta. Estos productos se enviaron al High-Throughput Genomics Center, Department of Genomics Science - University of Washington fueron purificados con Exo-Sap (Estados Unidos) y al MacroGen de Corea en donde se purifican con la técnica de desfosforilación parcial y EZ-seq, posteriormente fueron preparados para ser leídos en un secuenciador automático ABI 3730xl. Una vez obtenidas las secuencias se continuó con el análisis.

### 3.3. Análisis

Los análisis se realizaron con las 54 secuencias del gen completo del citocromo b (1140 pb) de 44 localidades obtenidas en este trabajo (Apéndice B) y además se utilizaron 13 secuencias publicadas en el Genbank del trabajo de Hoffmann y Baker, 2003 sobre *C. sowelli* del citocromo b (1140 pb) (Apéndice C). Se utilizó una secuencia de *C. subrufa* como grupo externo (Apéndice C).

Con el software MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) y FinchTV 1.4.0 (Patterson *et al.*, 2004) se realizó la edición y alineamiento de las secuencias. Con ayuda del software jModeltest 2.1.7 (Darriba *et al.*, 2012) se determinó el mejor modelo de sustitución nucleotídica que se ajusta al modelo evolutivo de las secuencias utilizando el Criterio de Información de Akaike (Akaike, 1974) debido a que es un modelo el cual busca aproximar al proceso más probable de evolución molecular (Posada, 2009). Con los valores del modelo que nos dio el software jModeltest se utilizó para el software MrBayes 3.1.2 (Ronquist *et al.*, 2012) para la construcción por inferencia bayesiana. Se empleó el algoritmo de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) en dos corridas simultáneas e independientes de 50, 000,000 de generaciones, muestreando datos cada 1000 generaciones y descartando el 20% de los

árboles iniciales como burn-in; la topología final se obtuvo con un consenso de mayoría del 60% considerando un burn-in del 20%.

Se construyó la red de haplotipos en el software Network 5.0.0.0 utilizando el algoritmo de Median Joining (Bandelt *et al.*, 1999). Con ayuda del software DnaSP 5.10 (Librado y Rozas, 2009) se calcularon los valores de diversidad genética: Diversidad haplotípica ( $h$ ), Diversidad nucleotídica ( $\pi$ ),  $d$  de Tajima y estadísticos  $F_{ST}$ . Además con MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) se calculó la distancia genética con el modelo de Kimura dos parámetros (K2P; Kimura 1980), esto para observar el porcentaje de divergencia que existen entre las secuencias de los grupos comparados, los valores obtenidos se compararon con valores ya establecidos para mamíferos respecto a éste estadístico.

Con el programa Arlequin 3.5. 2. 2. se realizó un AMOVA (Análisis de Varianza Molecular, Excoffier *et al.*, 1992), el cual con una matriz de distancias genéticas calcula la varianza asociada a la estructura genética en tres niveles: entre poblaciones de los grupos ( $\phi_{SC}$ ), entre los individuos dentro de la población ( $\phi_{ST}$ ), entre los grupos ( $\phi_{CT}$ ) (análogos a los estadísticos F de Wright), con 50000 permutaciones. Los grupos para el AMOVA se realizaron mediante criterios preestablecidos, separando las poblaciones del oeste de México con las poblaciones del este de México y Centroamérica, ya que se quiere ver si existe un efecto del Istmo.

Se realizó un análisis de varianza molecular espacial con el programa SAMOVA (Dupanloup *et al.*, 2002), este programa utiliza las coordenadas geográficas y las secuencias para explicar la estructuración genética; aquí no se forman los grupos previamente, ya que el programa los agrupa.

## **IV. Resultados**

### **4.1. Relaciones filogenéticas**

El criterio de Inferencia Bayesiana se ajustó al modelo de evolución de las secuencias HKY + G + I (Hasegawa *et al.*, 1985) con los siguientes parámetros: frecuencias nucleotídicas A (0.2773), C (0.3060), G (0.1409) y T (0.2758).

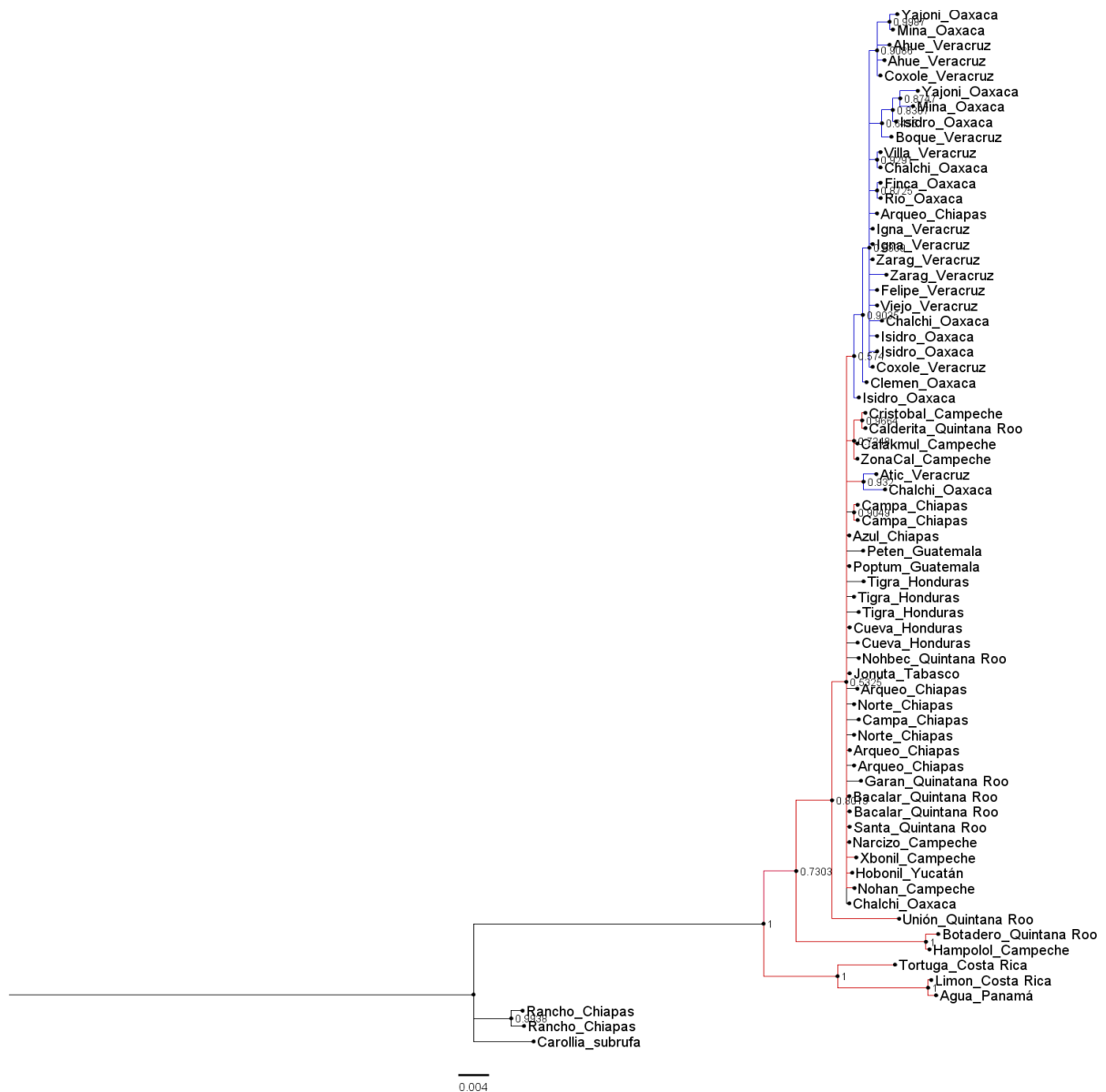
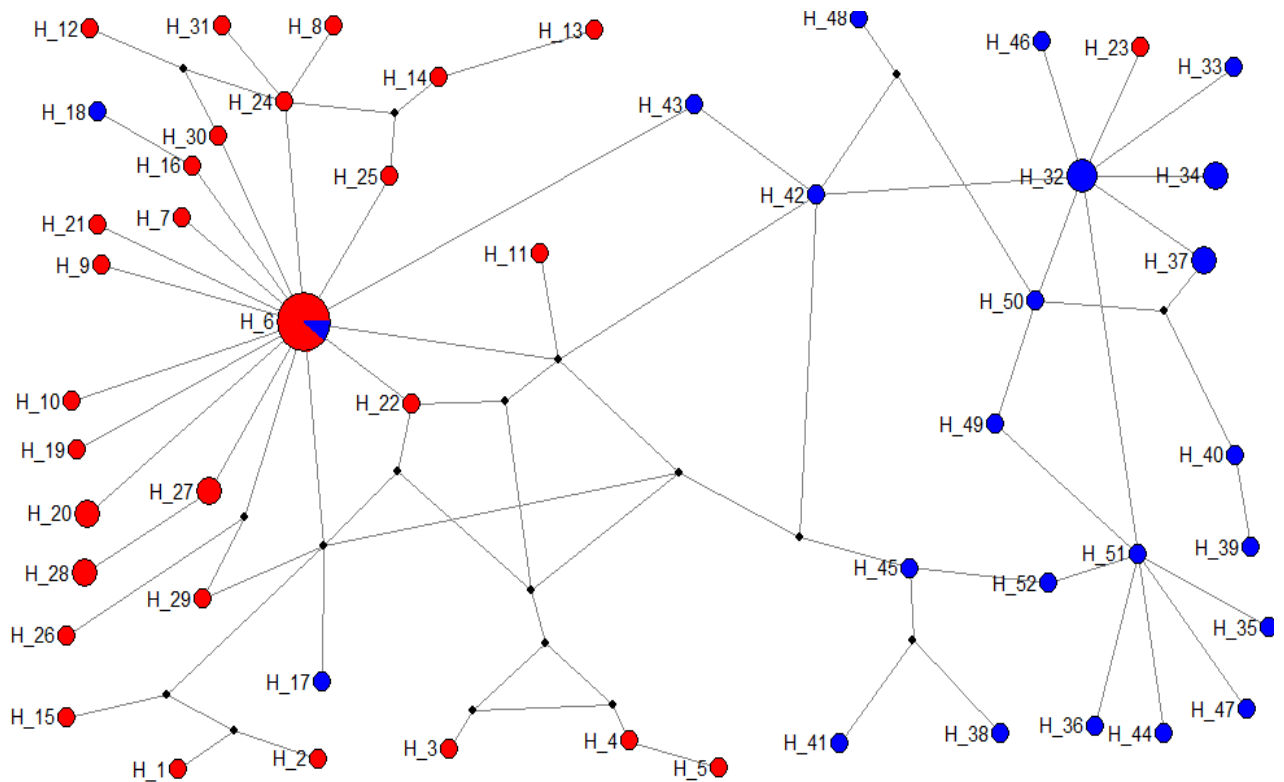


Figura 3. Relaciones filogenéticas entre ejemplares de *C. sowellii* a partir del citocromo b obtenido mediante Inferencia Bayesiana realizado con el programa Mrbayes con 50,000,000 de generaciones se ajustó al modelo evolutivo HKY + G + I . Sólo se muestra el árbol consenso. Los soportes de los clados están indicados en las ramas por la probabilidad posterior. En rojo se muestra la parte este del Istmo, mientras que el azul representa la parte oeste del Istmo. *C. subrufa* es el grupo externo.

El Istmo no es una barrera para esta especie, ya que no hay una clara separación a ambos lados del Istmo, debido a que los niveles de soporte son bajos dando como resultado politomías dentro de los grupos. Los ejemplares de Rancho (Chiapas) se concluyó mediante este análisis y medidas tomadas del antebrazo que eran más parecidas a *C. subrufa* y no a *C. sowellii* por lo que ya no se utilizaron en los siguientes análisis. Hay clados con soportes altos debido a que hay mucho flujo genético entre estas subpoblaciones.

#### 4.2. Diversidad genética



**Figura 4.** Rede de haplotipos de *C. sowerbi*. Em vermelho se mostra a parte este del Istmo, mientras que los puntos azules representan la parte oeste del Istmo, obtenidos mediante Neighbor-joining. En la red de haplotipos el tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia del haplotipo, el largo de las líneas es proporcional al número de mutaciones y los puntos en negro son los haplotipos ausentes o que no fueron muestreados.

Se utilizaron 67 secuencias del citocromo b (1,140 pb) de *C. sowerbi*. Encontrándose 52 haplotipos, donde el haplotipo 6 es el que se encontró en el mayor número de individuos, ya que se comparte con 6 ejemplares (Honduras, Guatemala, Chiapas, Tabasco, Quintana Roo, Campeche, Oaxaca), mientras que los haplotipos 20, 27, 28, 32, 34, 37 se encuentran en 2 ejemplares de diferentes estados (Veracruz, Oaxaca, Campeche, Quintana Roo), mientras que el resto de los haplotipos son únicos debido a que sólo encontraron en un ejemplar. Existen haplotipos que se encuentran a ambos lados del Istmo. La red de haplotipos muestra 2 grupos diferenciados: uno a oeste (azul) del Istmo y otro al este (rojo).

**Tabla 1.** Distancias genéticas entre los haplotipos al este, oeste del Istmo y Centroamérica, calculado con el modelo de sustitución nucleotídica Kimura 2 parámetros (Kimura, 1980).

Distancias genéticas	
Parte Oeste vs este	1.0 %
Parte Oeste vs Centroamérica	1.6%
Parte Este vs Centroamérica	1.5%

Para calcular el valor de la distancia genética se formaron tres grupos la parte oeste y este del Istmo también de la parte de Centroamérica. Donde la mayor diferencia se observa al comparar ambos lados del Istmo contra Centroamérica (Tabla 1).

**Tabla 2. Valores de diversidad genética**

Grupo	N	<i>H<sub>p</sub></i>	<i>h</i>	$\pi$	<i>S</i>	<i>k</i>	<i>D de Tajima</i>	<i>P</i>
Este	28	20	0.952	0.007	63	8.131	-1.928	* 0.05
Oeste	28	24	0.986	0.004	29	4.597	-1.398	0.10
Centro- américa	10	9	0.977	0.019	64	22.288	-0.147	0.10
Este + Centro- américa	41	31	0.962	0.016	153	18.684	-1.797	0.10

**N:** número de ejemplares; ***H<sub>p</sub>***: número de haplotipos; ***h***: diversidad haplotídica;  **$\pi$** : diversidad nucleotídica; ***S***: número de sitios polimórficos; ***k***: diferencias nucleotídicas

\* Valor significativo para la D de Tajima

Los estimadores de diversidad genética son parecidos entre los grupos formados, mientras que la D de Tajima en las poblaciones del oeste y Centroamérica no hubo diferencias significativas y en la población del este hubo diferencias significativas comparadas con los otros dos grupos. Además de que los resultados de la diversidad haplotídica (*h*) son altos mientras que la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) es baja.

**Tabla 3. Valores de  $F_{ST}$  entre los diferentes grupos establecidos.**

	$F_{ST}$
Oeste vs Este	0.227
Oeste vs Este + Centroamérica	0.151
Oeste vs Centroamérica	0.204

Para los valores de la  $F_{ST}$  en ninguna comparación hubo diferencias significativas esto debido a que hay poca diferenciación genética entre las poblaciones (Tabla 3).

**Tabla 4. Valores obtenidos por el AMOVA**

Componente de variación	Porcentaje de variación	Índice de fijación	<i>k</i>
Entre agrupaciones	22	$\phi_{sc}$ : 0.396	

Entre poblaciones de las agrupaciones	30.94	$\phi_{ST} : 0.529$	Oeste vs Este
Dentro de las poblaciones	47.6	$\phi_{CT} : 0.22$	
Entre agrupaciones	28.78	$\phi_{SC} : 0.552$	Oeste vs Centroamérica
Entre poblaciones de las agrupaciones	37.19	$\phi_{ST} : 0.659$	
Dentro de las poblaciones	34.03	$\phi_{CT} : 0.287$	

**Todos los valores son significativos ( $p < 0.05$ )**

Los valores del AMOVA para una  $k=2$  grupos, cuando se compara ambos lados del Istmo se muestra que el mayor porcentaje de variación fue dentro de las poblaciones debido a que no forman clados con un soporte alto (Fig. 3) y cuando se compara el lado oeste contra Centroamérica la variación se da entre poblaciones cercanas debido a que estas poblaciones son genéticamente más homogéneas (Tabla 4).

**Tabla 5. Valores del SAMOVA con  $k=2$  y  $k=5$**

$K$	Agrupaciones formadas	$\phi_{CT}$	$p$
2	Tortuga (Costa Rica)	0.815	0.029
	Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Campeche, Yucatán, Quintan Roo, Guatemala, Honduras, Costa Rica		
5	Tortuga (Costa Rica) (1) Limón (Costa Rica) (1) Quintana Roo (Botadero, Méx)(1) Campeche (Hampolol, Méx)(1)	0.872	0.011
	Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Campeche, Yucatán, Quintan Roo, Guatemala, Honduras		

**Los paréntesis con el número adentro indican el número de individuos por estado  
Todos los valores son significativos ( $p < 0.05$ )**

El SAMOVA no agrupó localidades al este y oeste del Istmo, cuando se analizó una  $k=2$  grupos formó un grupo sólo con una localidad de Costa Rica (Tortuga), el otro grupo lo conforman los demás estados y los ejemplares de Guatemala, Honduras, Costa Rica (Limón). Para una  $k=5$  grupos forma grupos individuales de los estados de Quintana Roo, Campeche, Costa Rica (Limón), Costa Rica (Tortuga), y otro grupo con las demás localidades

## **V. Discusión.**

### **5.1. Relaciones filogenéticas.**

El límite de la distribución entre *C. sowellii* y *C. brevicauda* es Panamá, se asocia con el Istmo de Panamá, éste pudo haber separado a estas especies de sus taxones hermanos, comenzando un proceso de diferenciación (Hoffmann y Baker, 2003). Clare *et al.* 2011 en sus resultados muestran que Istmo de Panamá es el límite geográfico de *C. sowellii* y *C. brevicauda*, esta área puede ser una zona de hibridación o una de aislamiento reproductivo para éstas especies. También se ha observado en murciélagos del género *Myotis* que el Istmo de Panamá separó a las poblaciones de las zonas Neártica y Neotropical; a partir de aquí estas especie se diferenciaron y actualmente ninguna especie habita en las dos zonas biogeográficas (Stadelmann *et al.*, 2007).

En este trabajo se corroboró que en *C. sowellii* el clado de Panamá y Costa Rica está bien diferenciado, esto también demostrado por Hoffmann y Baker, (2003) y Hernández-Dávila *et al.* (2012) el clado se mantiene separado de los ejemplares de Nicaragua y México esto se observa en el árbol filogenético (Fig. 3) y es apoyado por los grupos establecidos por el SAMOVA (Tabla 5). Ésta separación de clados se debe a la depresión de Nicaragua la cual se ha observado que en coleópteros separa a las poblaciones de Costa Rica con las de Nicaragua (Márquez y Morrone, 2003; Reyes *et al.*, 2014). La depresión también separa a las poblaciones de felinos *Leopardus pardalis* y *L. wiedii* (Eizirik *et al.*, 1998), roedores de los géneros *Habromys* y *Reithrodontomys* (Sullivan *et al.*, 2000; León-Paniagua *et al.*, 2007), asimismo se comprobó en el roedor *Otodylomys phyllotis* existe una restricción al flujo genético (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2012).

Además, la depresión de Nicaragua separa a las subespecies que se encuentran en Costa Rica de las demás subespecies de Nicaragua y México del ave *Lepidocolaptes affinis* (Arbeláez-Cortés *et al.*, 2010). Para los colibríes del género *Amazilia* esta depresión hizo que las poblaciones divergieran debido a la fragmentación de los bosques en los periodos interglaciales y cambios climáticos. Durante los periodos glaciales hubo un contacto secundario debido a la expansión de los bosques esto llevó a una nueva colonización donde hubo flujo genético e hibridación entre diferentes especies de este género (Jiménez y Ornelas, 2016). En el caso de las serpientes del género *Bothriechis* y *Atropoides* ésta depresión es una fuerte barrera al flujo génico por lo que divergieron estos géneros a partir de un ancestro en común (Castoe *et al.*, 2009).



## 5.2. Istmo de Tehuantepec

Baker *et al.*, 2015 estimaron el tiempo de divergencia del género *Carollia* fue a finales del Oligoceno hace 17.58 Ma (17.7-17.5 Ma), información que concuerda con lo propuesto por Lim y Engstrom (1998) quienes postulan que este género tiene aproximadamente 20 Ma. El levantamiento del Istmo empezó hace 6 Ma (Barrier *et al.*, 1998) y de acuerdo a Hoffman y Baker (2003) *C. sowellii* se originó en Centroamérica y después se expandió su rango hasta México. Esta especie pudo estar en refugios pleistocénicos en Veracruz y Chiapas antes de que finalizará el levantamiento del Istmo, esto se observa en el patrón en la distribución de haplotipos y los niveles de diversidad genética, ya que en estos estados se ha propuesto que hubo refugios pleistocénicos (Toledo, 1982).

Ya en estos refugios, *C. sowellii* pudo tener diferencias ecológicas intraespecíficas, ya que las especies del género *Carollia* coexisten aunque sean ecomorfológicamente similares evitando así la competencia, por lo tanto mientras sean más similares morfológicamente podrían coexistir debido a que se especializan en alimentarse de diferentes especies de los mismos géneros de plantas (York y Papes, 2007; Kraker, 2008; López-Aguirre *et al.*, 2015). En el estado de Chiapas se encuentra la Sierra Madre del Sur en la cual se han reportado altos niveles de endemismos para Oaxaca y Chiapas (Llorente-Bousquets *et al.*, 2013). Los ejemplares de Chiapas ya no pudieron ir más al norte debido al Istmo, pero también pudieron adaptarse a este lugar debido a que hubieron varias erupciones volcánicas en este estado por lo que hubo cambio en los tipos de vegetación (Espinoza *et al.*, 2006). Se observa en el árbol filogenético (Fig. 3) que hay clados con un soporte alto (0.9 a 1), debido a que existe un mayor flujo genético entre estas subpoblaciones respecto a la población total (Templeton, 2006), estos valores se sustentan con los resultados del SAMOVA, AMOVA y  $F_{ST}$ .

Para la especie *C. castanea*, los Andes actúan como barrera por lo que hubo aislamiento de las poblaciones y a cada lado se generaron diferencias morfológicas (Jarrín y Menendez-Guerrero, 2011), esto podría estar pasando en *C. sowellii* debido a que se forman dos grupos a ambos lados del Istmo, pero eso se tendrían que demostrar con estudios morfométricos ya que con los resultados obtenidos en este trabajo no hay una diferenciación clara a ambos lados (Fig. 4). Para la especie de murciélago *Pteronotus davyi* el Istmo si actúa como barrera debido a que existe una clara diferenciación genética a ambos lados del Istmo, pero todavía existen haplotipos presentes en ambos lados del Istmo lo que impide que se formen grupos monofiléticos (Guevara-Chumacero *et al.*, 2013). En *C. sowellii* todavía existen haplotipos presentes en ambos lados del Istmo por lo que aún no se forman grupos monofiléticos y éste no actúa como barrera (Fig. 4).

El Istmo de Tehuantepec no es una barrera para *C. sowellii*, se observa en el árbol filogenético (Fig. 3) debido a que los soportes de los clados son bajos y existen politomías. Desde el Mioceno hasta el Pleistoceno ocurrieron varios cambios climáticos en el Istmo que provocaron que en ambos lados existieran diferentes hábitats ocasionando que actuará

como barrera ecológica (Barrier *et al.*, 1998; Marshall y Liebherr, 2000; Espinoza *et al.*, 2006; Ortiz-Medrano *et al.*, 2008). Esto se comprueba ya que en el Istmo existe un elevado número de especies de mamíferos endémicos a esta área (Escalante *et al.*, 2007), distribuidos en diferentes tipos de vegetación.

El Istmo ha sido reconocido como una importante barrera biogeográfica en diferentes taxones como roedores (p. ej. Edwards and Bradley, 2002; León-Paniagua *et al.*, 2007; Arcangeli *et al.*, 2017), aves (p. ej. Cortés-Rodríguez *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011; Cortés-Rodríguez *et al.*, 2013; Jiménez y Ornelas, 2016), anfibios (p. ej. Mulcahy *et al.*, 2006), reptiles (p. ej. Daza *et al.*, 2009), plantas (p. ej. Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2011) y escarabajos (p. ej. Liebherr, 1994; Morrone, 2005). En contraste, en este trabajo se confirma que el Istmo no es una barrera para *C. sowelli* debido a que no existe una clara diferenciación a ambos lados (Fig. 3 y 4), pero también en otros taxones se ha demostrado que el Istmo no actúa como barrera, en roedores (p. ej. Kerhoulas y Arbogast, 2010), murciélagos (p. ej. Hernández-Canchola y León-Paniagua, 2017), en el armadillo de nueve bandas (Arteaga *et al.*, 2011) y aves (p. ej. Rodríguez-Gómez *et al.*, 2013).

### 5.3. Estructura genética

Los valores que se muestran en la Tabla 3, representan los valores de la  $F_{ST}$  para las poblaciones preestablecidas, no hubo diferencias significativas debido a que existe una baja diferenciación genética debido a que existe un alto flujo genético entre estas subpoblaciones a ambos lados del Istmo respecto a la población total (Soler, 2003; Templeton, 2006), estos valores de  $F_{ST}$  ( $< 0.25$ ) han sido reportados para otras especies de murciélagos *Phyllostomus hastatus* (0.022-0.206), *Desmodus rotundus* (0.045-0.154), *Saccopteryx bilineata* (0.003-0.140), *Tadarida brasiliensis* (0.0166), *Carollia perspicillata* (0.004-0.09) (McCracken, 1987; Fleming, 1988; Russell y McCracken, 2006) que indican una alta estructura genética entre poblaciones locales.

En la Tabla 1 se muestran valores correspondientes a la distancia genética que hay entre las especies que se distribuyen al lado este y oeste. Bradley y Baker (2001) reportan valores de hasta un 2% respecto a la distancia genética que puede existir al comparar poblaciones de la misma especie, ya que un nivel mayor de 2% significa que ya se están comparando especies dentro de un género, se obtuvo un valor de 1% al comparar ambos lados del Istmo por lo que este valor indica que no hay una separación por parte del Istmo.

Al comparar las poblaciones del este con las poblaciones de Centroamérica el resultado es de 1.6%, este valor es más alto debido a las diferencias en el citocromo b, (Baker *et al.*, 2002), esto se puede corroborar con el árbol filogenético ya que las medidas de soporte son diferentes en ambos clados (Fig. 3). Baker *et al.* 2002, obtuvieron un valor de 1.58% de distancia genética al comparar poblaciones de México-Nicaragua y Costa Rica-Panamá, este valor es más bajo al que se encontró en este estudio (1.6%) aunque el valor sea más alto se debe de obtener un valor mayor a 2%, ya que valores mayores de este

valor sirve para comparar especies de diferentes géneros. Arcangeli et al., (2017) reportan valores de 3% a 8.9% de distancia genética dentro del género *Tlacuatzin*, por lo que estos valores corresponden al comparar diferentes especies dentro del género (Bradley y Baker, 2001).

Los valores de la diversidad haplotípica ( $h$ ) es alto y los valores de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) son bajos al comparar los diferentes grupos formados (Tabla 2), debido a que las poblaciones se encuentran en expansión (Hedrick, 2011), información que concuerdan con los valores reportados por Hoffmann y Baker 2003 para *C. sowelli* y para otros murciélagos (Russell y McCracken, 2006; Guevara-Chumacero *et al.*, 2013; Hernández-Canchola y León-Paniagua, 2017). Esto valores hacen referencia a que existen muchos haplotipos cercanamente relacionados esto se puede observar en la red de haplotipos y en el árbol filogenético (Fig. 3 y 4).

El AMOVA (Tabla 4) mostró diferencias significativas al comparar los grupos preestablecidos, aunque todavía no se diferencian los grupos debido a que los valores de la distancia genética y los estadísticos de F son bajos. Cuando se compara el lado oeste contra Centroamérica el resultado es bajo porque la variación ocurre entre poblaciones cercanas (p. ej. el clado de Costa Rica y Panamá tienen un soporte alto en el árbol y entre estas poblaciones existe un flujo génico mayor que con las demás poblaciones; Fig. 3). Cuando se comparan ambos grupos existe flujo génico entre las poblaciones cercanas respecto a la población total ( $\phi_{ST}$  es análogo de  $F_{ST}$ ). También los valores de  $\phi_{SC}$  y  $\phi_{CT}$  es bajo debido a que hay pocos heterocigotos en las subpoblaciones debido a que hay más flujo genético entre poblaciones locales ( $\phi_{SC}$  es análogo de  $F_{IT}$ ;  $\phi_{SC}$  es análogo de  $F_{IS}$ ) (Templeton, 2006; Hedrick, 2011).

En la Tabla 5 se muestran los resultados del SAMOVA el cual no apoya la hipótesis de que el Istmo es una barrera para esta especie, debido a que no forma los grupos que se compararon en este trabajo. Ya que forma dos grupos: el primero con sólo 1 ejemplar de Costa Rica este debido a que presenta diferencias en el citocromo b (Baker *et al.*, 2002). Es posible que estas diferencias se deban a cuestiones ecológicas intraespecíficas, ya que las especies del género *Carollia* evitan la competencia (York y Papes, 2007; Kraker, 2008; López-Aguirre *et al.*, 2015) y el otro grupo que agrupó fue con el resto de los ejemplares de las demás localidades.

Cuando se comparó una  $k=5$  grupos, formó un grupo con los ejemplares de Quintana Roo y Campeche estos ejemplares tienen un soporte alto en el árbol (Fig. 3), estos individuos se encontraban en la Península de Yucatán cuando estaba emergiendo (13 a 4.5 m.a.), debido a esto se estableció cierto tipo de flora (Espinoza *et al.*, 2006) además de que existe un alto flujo genético entre estas subpoblaciones en comparación con las demás subpoblaciones de los otros estados (Tabla 1) por tanto presentan más diferencias en el citocromo b. Los demás grupos fueron se formaron con dos ejemplares de Costa Rica y el último grupo con los demás ejemplares de los otros estados. Estos grupos formados con una  $k=5$  son los que presentan los soportes altos en el árbol filogenético (Fig. 3).

Los valores de  $\phi_{CT}$  = 0.81581 y 0.85609 son muy altos, debido a que existe flujo genético alto entre las poblaciones locales respecto a la población total, esto también se debe a que hay varios cambios nucleotídicos en el citocromo b (Baker *et al.*, 2002). Además, con este marcador utilizado en este trabajo es heredado sólo por la hembras, ellas podrían presentar una conducta filopátridas y por eso se observa este patrón general en la estructura genética de esta especie (Trajano, 1995). Igualmente esto se observa en el árbol filogenético ya que cada grupo que formó el SAMOVA es cada clado con un soporte alto (Fig 3.)

## **VI. Conclusiones**

Para *C. sowellii* el Istmo no es una barrera ya que no hay una separación clara de las poblaciones al este y oeste debido a que no se forman grupos monofiléticos, esto se corrobora con los árboles filogenéticos y con la red de haplotipos además con los valores de distancia genética y los valores de la F; esta especie puede estar presentando una divergencia la cual no lleva muchos años para que se observen las poblaciones separadas. Se deben de realizar estudios de morfometría para comprobar si existe la separación por parte del Istmo ya que con datos moleculares no se apoya esta hipótesis.

## VII. Literatura citada:

1. Akaike, H. (1974). A new look at the Statistical Model Identification. IEEE. Transactions on Automatic Control. 19 (6): 716-723.
2. Arcangeli, A. Ligth, E. J. y Cervantes, F. (2017). Molecular and morphological evidence of the diversification in the gray mouse opossum, *Tlacuatzin canescens* (Didelphimorphia), with description of a new species. Journal of Mammalogy. 99 (1): 138-158.
3. Arteaga, C. M. McCormack, E. J. Eguiarte, E. L. y Medellín, A. R. (2011). Genetic admixture in multidimensional environmental space: asymmetrical niche similarity promotes gene flow in armadillos (*Dasypus novemcinctus*). Evolution. 65 (9): 2470-2480.
4. Avise, J. C. (2004). Molecular Markers, Natural History and Evolution. 2 Ed. Sinauer Associates. USA. 684 pp.
5. Baker, J. R. Bininda-Emonds, P. R. O. Mantilla-Meluk, H. Porter, A. C. y Van de Bussche. A. (2012). Molecular time scale of diversification of feeding strategy and morphology in New World Leaf-Nosed Bats (Phyllostomidae): a phylogenetic perspective. Pp. 385-409. In: Evolutionary History of Bats Fossils, Molecules and Morphology. (Gunnell, F. G. y Simmons, B. N). Cambridge. USA.
6. Baker, J. R. y Bleier, J. W. (1971). Karyotypes of bats of the subfamily Carolliinae (Mammalia; Phyllostomidae) and their evolutionary implications. Experientia. 27 (2): 220-222.
7. Baker, R. J. Solari, S. y Hoffman, F. G. (2002). A new Central American species from the *Carollia brevicauda* complex. Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University. 217: 1-12.
8. Ballard, O. W. J. y Whitlock, C. M. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology. 13: 729-744.
9. Bandelt, H. J. Forster, P. y Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution. 16: 37-48
10. Barrier, E. Velasquillo, L. Chávez, M. y Gaulon, R. (1998). Neotectonic evolution of the Isthmus of Tehuantepec (southeastern Mexico). Tectonophysics. 287: 77-96.
11. Bradley, D. R. y Baker, J. R. (2001). A test of the genetic species concept: cytochrome b sequences and mammals. Journal of Mammalogy. 82 (4): 960-973.
12. Brown, M. W. George, M. y Wilson, C. A. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences. 76 (4): 1967-1971.
13. Carranza, S. (2002). Los métodos moleculares en el estudio de la sistemática y filogenia de los Anfibios y Reptiles Ibéricos. In: Atlas y libro rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Pp. 551-579. (Pleguezuelos, M. J. Márquez, R. y Lizana, M. eds.). Dirección General de Conservación de la Naturaleza - Asociación Herpetológica Española. 2 ed. España.
14. Castella, V. Ruedi, M. y Excoffier, L. (2001). Contrasted patterns of mitochondrial and nuclear structure among nursery colonies of the bat *Myotis myotis*. Journal of Evolutionary Biology. 14: 708-720.
15. Castoe, A. T. Daza, M. J. Smith, N. E. Sasa, M. M. Kuch, U. Campbell, A. J. Chippindale, T. P. y Parkinson, L. C. (2009). Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. Journal of Biogeography. 36: 88-103.
16. Ceballos, G. y Oliva, G. (eds.). (2005). Los mamíferos silvestres de México. CONABIO. Fondo de Cultura Económica. México. 900 pp.
17. Chomyn, A. Mariottini, P. Cleeter, J. W. M. Ragan, L. C. Matsuno-Yagi, A. Hatefi, Y. Doolittle, F. R. y Attardi, G. (1985). Six unidentified reading frames of human

- mitochondrial DNA encode components of the respiratory-chain NADH dehydrogenase. *Nature*. 314: 592-597.
18. Clare, L. E. Lim, K. B. Fenton, B. M. Hebert, N. D. P. (2011). Neotropical bats: estimating species with DNA barcodes. *PLoS ONE*. 6 (7): 1-14.
  19. Cornejo, R. A., Serrato, D. A., Rendón, A. B., Graciela, R. M. M (compiladoras). (2014). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). México. 256 pp.
  20. Cortés-Rodríguez, N. Hernández-Baños, B. E. Navarro-Sigüenza, A. G. y Omland, E. K. (2008). Geographic variation and genetic structure in the streak-backed: low mitochondrial DNA differentiation reveals recent divergence. *The Condor*. 110 (4): 729-739.
  21. Cortés-Rodríguez, N. Jacobsen, F. Hernández-Baños, B. E. Navarro-Sigüenza, A. G. Peters, J. L. y Omland, K. E. (2013). Coalescent analyses show isolation without migration in two closely related tropical orioles: the case of *Icterus graduacauda* and *Icterus chrysater*. *Ecology and Evolution*. 3 (13): 4377-4387.
  22. Cosson, J-F. y Pascal, M. (1994). Stratégie de reproduction de *Carollia perspicillata* (L., 1758) (Chiroptera, Phyllostomidae) en Guyane Française. *Revue d'Écologie (la Terre et la vie)*. 49: 117-137.
  23. Cuartas, A. C. Muñoz, J. y González, M. (2001). Una nueva especie de *Carollia* Gray, 1838 (Chiroptera: Phyllostomidae) de Colombia. *Actualidades Biológicas*. 23 (75): 63-73.
  24. Darriba, D. Taboada, G. L. Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9 (8): 772.
  25. Daza, M. J. Smith, N. E. Páez, P. V. y Parkinson L. C. (2009). Complex evolution in the Neotropics: The origin and diversification of the widespread genus *Leptodeira* (Serpentes: Colubridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 53: 653-667.
  26. Dupanloup, I. Schneider, S. y Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11(12): 2571-81.
  27. Edwards, W. C. y Bradley, D. R. (2002). Molecular Systematics and Historical Phylogeography of the *Neotoma mexicana* species group. *Journal of Mammalogy*. 83 (1): 20-30.
  28. Edwards, S. Arctander, P. y Wilson, A. C. (1991). Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds. *Proceedings of the Royal Society of London b*. 243: 99-107.
  29. Eguiarte, E. L. Souza, V. y Aguirre, X. (2007). *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología. UNAM. CONABIO. México. 608 pp.
  30. Eguiarte, E. L. Aguirre-Planter, E. Scheinvar, E. González, G. A. y Souza, V. (2015). Diferenciación, flujo génico y estructura génica de las poblaciones, con énfasis en especies de plantas mexicanas. Pp. 76-106. In: *Evolución orgánica* (Becerra, B. A. Castañeda, S. A. y Piñero, D. D. (coordinadores)). Facultad de Ciencias. UNAM. México. 450 pp.
  31. Eizirik, E. Bonatto, L. S. Johnson, E. W. Crawshaw, Jr. G. P. Vié, C. J. Brousset, D. M., O'Brien, S. J. y Salzano, F. M. (1998). Phylogeographic patterns and evolution of the mitochondrial DNA control region in two neotropical cats (Mammalia, Felidae). *Journal of Molecular Evolution* 47: 613-624.
  32. Escalante, T. Szumik, C. y Morrone, J. J. (2007). Áreas de endemismo de los mamíferos de México: Reanálisis y comparación con estudios previos. *Darwiniana*. 45: 41-43.
  33. Espinoza, M. E. Sánchez, I. García, B. M. Lorenzo, M. C. (2006). Análisis de la distribución de roedores de la familia Muridae en el sur de México. Pp. 47-54. In: *Genética y Mamíferos mexicanos: presente y futuro* (Vázquez-Domínguez y Hafner). New Mexico Museum of natural History & Science. Bulletin No. 32.

34. Esposti, D. M. De Vries, S. Crimi, M. Ghelli, A. Patarnello, T. y Meyer, A. (1993). Review: Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1143 (3): 243-271.
35. Excoffier, L. Smouse, E. P. y Quattro, M. J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131 (2): 479-491.
36. Farias, P. I. Ortí, G. Sampaio, I. Schneider, H. y Meyer, A. (2001). The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationships among Cichlid Fishes. *Journal of Molecular Evolution*. 53: 89-103.
37. Fleming, H. T. (1988). *The short-tailed fruit bat. A study in plant-animal interactions*. University of Chicago. USA. 365 pp.
38. Fleming, H. T. (1991). The relationship between body size, diet, and habitat use in frugivorous bats, genus *Carollia* (Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*. 72 (3): 493-501.
39. Fleming, H. T. (2004). Dispersal ecology of Neotropical *Piper* shrubs and treelets. Pp. 58-77. *Piper: A model genus for studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution*. (Dyer, A. L. y Palmer, N. D. A. eds.). Kluwer Academic/ Plenum Publisher. Estados Unidos. 214 pp.
40. Frankham, R. Ballou, D. J. Briscoe, A. D. y McInnes, H. K. (2004). *A primer of conservation genetics*. Cambridge University Press. New York. 220 pp.
41. Freeland, R. J. Kirk, H. y Petersen, S. (2011). *Molecular ecology*. Wiley-Blackwell. 2 Ed. Reino Unido. 449 pp.
42. González, C. Francisco, O. J. y Gutiérrez-Rodríguez, C. (2011). Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedge-tailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC Evolutionary Biology*. 11 (38): 1-19.
43. Gutiérrez-García, T. y Vázquez-Domínguez, E. (2012). Biogeographically dynamic genetic structure bridging two continents in the monotypic Central American rodent *Otolyomys phyllotis*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 107: 593-610.
44. Gutiérrez-Rodríguez, C. Ornelas, J. F. y Rodríguez-Gómez, F. (2011). Chloroplast DNA phylogeography of a distylous shrub (*Palicourea padifolia*, Rubiaceae) reveals past fragmentation and demographic expansion in Mexican cloud forests. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 63: 603-615.
45. Guevara-Chumacero, L. M. López-Wilchis, R. Juste, J. Ibáñez, C. Martínez-Méndez, L. A. y Barriga-Sosa, I. D. L. A. (2013). Conservation Units of *Pteronotus Davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico Based on Phylogeographical Analysis. *Acta Chiropterologica*. 15 (2): 353-363.
46. Guevara-Chumacero, L. M. López-Wilchis, R. Pedroche, F. F. Juste, J. Ibáñez, C. Barriga-Sosa, I. D. L. (2010). Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae). *Journal of Mammalogy*. 91 (1): 220-232.
47. Hasegawa, M. Kishino, H. y Yano, T. A. (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*. 22: 160-174.
48. Hedrick, W. P. (2011). *Genetics of populations*. Jones and Bartlett Publishers. 4 Ed. Estados Unidos de América. 675 pp.
49. Heithaus, R. E. y Fleming, H. T. (1978). Foraging movements of a frugivorous bat, *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *Ecological Monographs*. 48 (2): 127-143.
50. Herbst, H. L. (1986). The role of nitrogen from fruit pulp in the nutrition of the frugivorous bat *Carollia perspicillata*. *Biotropica*. 18 (1): 39-44.
51. Hernández-Canchola, G. y León-Paniagua, L. (2017). Genetic and ecological processes promoting early diversification in the lowland Mesoamerican bat *Sturnira parvidens* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 114: 334-345.
52. Hernández-Dávila, A. Vargas, A. J. Martínez-Méndez, N. Lim, K. B. Engstrom, D. M. y Ortega, J. (2012). DNA barcoding and genetic diversity of phyllostomid bats from

- the Yucatan Peninsula with comparisons the Central America. *Molecular Ecology Resources*. 12: 590-597.
53. Hoffman, F. G. y Baker, R. J. (2003). Comparative phylogeography of short-tailed bats (*Carollia*: Phyllostomidae). *Molecular Ecology*. 12: 3403-3414.
  54. Huidobro, L. Morrone, J.J. Villalobos, J. L. y Álvarez. F. (2006). Distributional patterns of freshwater taxa (fishes, crustaceans and plants) from the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*. 33: 731-741.
  55. Irwin, D. M. Kocher, T. D. y Wilson, A. C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*. 32: 3403-3414.
  56. Iudica, C. A. (2000). Systematic revision of the neotropical fruit bats of the genus *Sturnira*: a molecular and morphological approach. Tesis Doctoral. University of Florida. Gainesville. 284 pp.
  57. Jarrín-V, P. y Menendez-Guerrero, P. A. (2011). Environmental components and boundaries of morphological variation in the short-tailed fruit bat (*Carollia* spp.) in Ecuador. *Acta Chiropterologica*. 13 (2): 319-340.
  58. Jiménez, A. R. y Ornelas, F. J. (2016). Historical and current introgression in a Mesoamerican hummingbird species complex: a biogeographic perspective. *PeerJ*. 1-36.
  59. Kerhoulas, J. N. y Arbogast, S. B. (2010). Molecular systematics and Pleistocene biogeography of Mesoamerican flying squirrels. *Journal of Mammalogy*. 91(3): 654-667.
  60. Kraker, C. C. (2008). Comparación de nicho entre dos especies simpátricas de murciélagos del género *Carollia* (Mammalia: Chiroptera) en Guatemala. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. 59 pp.
  61. Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111-120.
  62. León-Paniagua, L. Navarro-Sigüenza, A. G. Hernández-Baños, B. E. y Morales, J. C. (2007). Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 42: 653-664.
  63. Librado, P. y Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451-1452.
  64. Liebherr, K. J. (1994). Biogeographic patterns of montane Mexican American Carabidae (Coleoptera). *The Canadian Entomologist*. 126: 841-860.
  65. Lim, K. B. y Engstrom, D. M. (1998). Phylogeny of neotropical short-tailed fruit bats, *Carollia* spp.: phylogenetic analysis of restriction site variation in mtDNA. Pp. 43-58. In: *Bat biology and Conservation*. (Kunz, T. H. y Racer, A. P). Smithsonian Institution Press, Washington.
  66. López, A. J. Lorenzo, C. Barragán, F. y Bolaños, J. (2009). Mamíferos terrestres de la zona lagunar del istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 80: 491-505.
  67. López-Aguirre, C. Pérez-Torres, J. Wilson, B. A. L. (2015). Cranial and mandibular shape variation in the genus *Carollia* (Mammalia: Chiroptera) from Colombia: biogeographic patterns and morphological modularity. *PeerJ*. 3: 1-23.
  68. Lorenzo, C. Kraker, C. y Bolaños, J. (2015). Los murciélagos filostómidos de Chiapas, México y Guatemala. *El Colegio de la Frontera Sur*. México. 167 pp.
  69. Lorenzo, M. C. y García, B. M. (2007). Sistemática y conservación de mamíferos de Chiapas. Pp. 47-57. In: *Tópicos en sistemática, biogeografía, ecología y conservación de mamíferos*. (Sánchez-Rojas, G., Rojas-Martínez, A.). Universidad Autónoma de Hidalgo. México. 214 pp.
  70. Llorente-Bousquets, J. Luis-Martínez, A. Arellano-Covarrubias A. (2013). A new subspecies of *Synargis nymphihoides* (Butler, 1872) (Lepidoptera, Riodinidae): a prediction from a Center of endemism of Sierra Madre del Sur, Mexico. *Southwestern*



- Entomologist. 38 (4): 623-634.
71. Márquez, J. y Morrone, J. J. (2003). Análisis panbiogeográfico de las especies de *Heterolinus* y *Homalolinus* (Coleoptera: Staphylinidae: Xantholinini). *Acta Zoológica Mexicana*. 90: 15-25.
  72. Marshall J. C. y Liebherr, J. K. (2000). Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography*. 27: 203-216.
  73. McCracken, F. G. (1987). Genetic structure of bat social groups. Pp. 281-298. In *Recent advances in the study of bats*. (Fenton, B. M. Racey, P. y Rayner V. M.J. editors). Cambridge University. Great Britain.
  74. McLellan, J. L. (1984). A morphometric analysis of *Carollia* (Chiroptera: Phyllostomidae). *American Museum*. 2791: 1-35.
  75. McLellan, J. L. y Koopman, F. K. (2007). Subfamily Carolliinae (Miller, 1924). *Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats* (Gardner, L. A.) Pp. 208-210. The University of Chicago Press. United States of America.
  76. Medellín, R. A. Arita, H. T. y Sánchez, Ó. (2008). Identificación de los murciélagos de México. *Clave de Campo*. 2a Edición. Instituto de Ecología. UNAM. 79 pp.
  77. Meyer, A. (1994). Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. *Trends in Ecology & Evolution*. 9(8): 278-280.
  78. Miller, S. A. Dykes, D. D. y Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16(3): 1215.
  79. Mora, V. L. A. (2013). Determinación del contenido de grasa corporal e índice de condición física de *Sturnira liliium*, *Artibeus jamaicensis* y *Carollia sowelli* en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 84 pp.
  80. Morrone, J. J. (2005). Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 76 (2): 207-252.
  81. Mulcahy, G. D. Morril, H. B. y Mendelson, J. R. (2006). Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Biogeography*. 33: 1889–1904.
  82. Noguera-Urbano, A. E. y Muñoz-Montenegro, S. (2014). Un cariotipo del murciélago sedoso de cola corta (*Carollia brevicauda* [Schinz, 1821], Chiroptera: Phyllostomidae) de los andes de Colombia. *Therya*. 5 (2): 559-566.
  83. Novoa, S. Cadenillas, R. y Pacheco, V. (2011). Dispersión por murciélagos frugívoros en bosque del parque nacional cerros de Amotape, Tumbes, Perú. *Mastozoología Neotropical*. 18 (1): 81-93.
  84. Ortiz-Medrano, A. Moreno-Letelier, A. y Piñero, D. (2008). Fragmentación y expansión demográfica en las poblaciones mexicanas de *Pinus ayacahuite* var. *ayacahuite*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 83: 25-36
  85. Owen, G. J. Schmidly, J. D. y Davis, B. W. (1984). A morphometric analysis of three species of *Carollia* (Chiroptera, Glossophaginae) from Middle America. *Mammalia*. 48 (1): 85-93
  86. Patterson, J. Chamberlain, B. y Thayer, D. (2004). Finch TV version 1.4.0.
  87. Pérez-García, E. A. y Meave, J (2006). Coexistence and divergent of tropical dry forest and savannas in southern México. *Journal of Biogeography*. 33: 438-447.
  88. Pérez-García, E. A. Meave, J. y Gallardo, C. (2001). Vegetación y flora de la región de Nizanda, Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Acta Botánica Mexicana*. 56: 19-89.
  89. Peterson, T. A. Soberón, J. y Sánchez-Cordero, S. (1999). Conservatism of Ecological Niches in Evolutionary Time. *Science*. 285: 1265-1267.
  90. Pine, H. R. (1972). The phyllostomid bats of the genus *Carollia* Gray. Tesis de Doctorado. Texas A. & M. University. 284 pp.
  91. Piñero, D. Barahona, A. Eguiarte, L. Olivares, R. A. Salas, L. R. Díaz, P. Morales, G. E. y Zizumbo-Villarreal, D. (2008). Pp. 415-435. La variabilidad genética aspectos

- conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. Capital Natural de México, Vol I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio. México.
92. Posada, D. (2009). Selección de Modelos de Evolución Molecular. Pp. 3-11. In: Evolución y Adaptación: 150 años después del Origen de las Especies (Dopazo, H. y Navarro, A. eds.). Sociedad Española de Biología Evolutiva. España.
  93. Rassweiler, J. J. y Badwaik, K. N. (1997). Delayed development in the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*. Journal of Reproduction and Fertility. 109: 7-20.
  94. Reyes, A. Hernández, B. Solís, A, y Jean-Michel, M. (2014). *Cantharolethrus* (Coleoptera: Lucanidae) nuevo reporte para la fauna de Nicaragua. Revista Nicaragüense de Entomología. 77: 1-7.
  95. Rodríguez, C. V. (2007). El papel del Istmo de Tehuantepec en los patrones biogeográficos de la avifauna mesoamericana. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 47 pp.
  96. Rodríguez-Gómez, F. Gutiérrez-Rodríguez, C. y Ornelas, F. J. (2013). Genetic, phenotypic and ecological divergence with gene flow at the Isthmus of Tehuantepec: the case of the azure-crowned hummingbird (*Amazilia cyanocephala*). Journal of Biogeography. 40: 1360-1373.
  97. Romero-Nava, C. León-Paniagua, L. y Ortega, J. (2013). Microsatellites loci reveal heterozygosity and population structure in vampire bats (*Desmodus rotundus*) (Chiroptera: Phyllostomidae) of Mexico. Revista de biología Tropical. 62 (2): 659-669.
  98. Ronquist, F. M. Teslenko, M, van der Mark, P, Ayres, D. L. Darling, A. Höhna, S. Larget, B. Liu, L. Suchard, M. A. y Huelsenbeck, J. P. (2011). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology. 61: 539-542.
  99. Rusell, J. P. (2010). iGenetics: a molecular approach. 3 Ed. Pearson education. San Francisco, CA. 852 pp.
  100. Rusell, L. A. y McCracken, F. G. (2006). Functional and evolutionary ecology of bats. Pp. 227-247. Population genetic structure of very large populations: the brazilian free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis* (Zubaid, A. McCracken, F. G. y Kunz, H. T. editors.). Oxford. United States of America.
  101. Saldaña-Vázquez, R. A. Sosa, J. V. Iñiguez-Dávalos, L.I. y Schondube, E. J. (2013). The role of extrinsic and intrinsic factors in Neotropical fruit bat-plant interactions. Journal of Mammalogy. 94 (3): 632-639.
  102. Solari, S y Martínez-Arias, V. (2014). Cambios recientes en la sistemática y taxonomía de murciélagos Neotropicales (Mammalia: Chiroptera). Therya, 5: 167–196.
  103. Soler, M. (2003). Evolución: base de la biología. Proyecto Sur de Ediciones. España. 559 pp.
  104. Stadelmann, B. Lin, K. L. Kunz, H. T. y Ruedi, M. (2007). Molecular phylogeny of New World *Myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA genes. Molecular Phylogenetics and Evolution. 43: 32-48.
  105. Sullivan, J. Arellano, E. y Rogers, S. D. (2000). Comparative phylogeography of mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. The american naturalist. 155 (6): 755-768.
  106. Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics. 123: 585-595.
  107. Tamura, K. Stecher, G- Peterson, D. Filipski, A. y Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution. 30 (12): 2725-2729.
  108. Téllez-Girón, G. (2005). *Carollia sowelli*. Pp. 233. In Los mamíferos silvestres de México (Ceballos, G. y Oliva, G. eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
  109. Templeton, R. A. (2006). Population genetics and microevolutionary theory. Wiley. United States of America. 716 pp.

110. Toledo, V. M. (1982). Pleistocene changes in vegetation in tropical Mexico. Pp.93-111. In: Biological diversification in the tropics. (Trance, G. T. ed.). Columbia University Press. Nueva York.
111. Tomasco, H. I. y Lessa, P. E. (2015). Variación genética, equilibrio de Hardy-Weinberg y mutación. Pp. 10-48. In: Becerra, B. A. Castañeda, S. A. y Piñero, D. D. (coordinadores). Evolución orgánica. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 450 pp.
112. Trajano, E. (1995). Protecting caves for the bats or bats for the caves. *Chiroptera Neotropical*. 1 (2): 19-21.
113. Verdú del Campo, M. (1997). Ecología evolutiva: aspectos básicos. Universidad Nacional Autónoma de México Campus Iztacala. 160 pp.
114. Vleut, I. Galindo-González, J. Frederik de Boer, W. Levy-Tacher, S. I. y Luis-Bernardo, V. (2015). Niche Differentiation and its Relationship with Food Abundance and Vegetation Complexity in Four Frugivorous Bat Species in Southern Mexico. *Biotropica*. 47 (5): 606-615.
115. Voigt, C. C. Voigt-Heucke, S. L. y Kretzschmar, A. S. (2012). Isotopic evidence for seed transfer from successional areas into forests by short-tailed fruit bats (*Carollia* spp.; Phyllostomidae). *Journal of Tropical Ecology*. 28: 181-186.
116. Whitehead, R. S. Obando, Q. M. F. y Deane B. M. (2015). Chemical tradeoffs in seed dispersal: defensive metabolites in fruits deter consumption by mutualist bats. *Oikos*. 125 (7): 927-937.
117. Wrigth, J. A. Van Den Bussche, A. R. Lim, K. B. Engstrom, D. M. y K. Baker, J. R. (1999). Systematics of the Genera *Carollia* and *Rhinophylla* Based on the Cytochrome-B Gene. *Journal of Mammalogy*. 80 (4): 1202-1213.
118. York, A. H. y Billings, A. S. (2009). Stable-Isotope Analysis of Diets of Short-tailed Fruit Bats (Chiroptera:Phyllostomidae: *Carollia*). *Journal of Mammalogy*. 90 (6): 1469-1477.
119. York, A. H. Papes, M. (2007). Limiting similarity and species assemblages in the short-tailed fruit bats. *Journal of Zoology*. 273: 249–256

**Apéndice A.** Protocolo Modificado para la extracción de ADN por el método de NaCl y cloroformo: alcohol isoamílico (Miller *et al.*, 1988 como se detalla en Castella *et al.*, 2001).

1. Colocar de 10 a 30 mg de tejido en un microtubo limpio
2. Adicionar 410 µL de Buffer de lisis y 90 µL de SDS al 10%
3. Incubar a 65°C por 15 minutos
4. Homogeneizar el tejido en partículas finas con pistilos
5. Añadir 20 µL de Proteinasa K
6. Vórtex por 10 segundos
7. Incubar a 65°C por 30-45 minutos
8. Adicionar 200 µL de NaCl saturado [6M]
9. Agitar vigorosamente, volteando a mano durante 10 minutos
10. Incubar en baño de hielo por 10 minutos
11. Centrifugar a 10,000 rpm durante 10 minutos.
12. Transferir 400 µL del sobrenadante a un microtubo limpio
13. Adicional 350 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1)
14. Agitar vigorosamente, volteando a mano durante 10 minutos
15. Centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos
16. Transferir 400 µL del sobrenadante a un microtubo limpio
17. Adicionar 800 µL (ó 2 volúmenes de lo colectado) de etanol puro frío y dejarlo 1 noche en el refrigerador

18. Mezclar un par de veces por inversión.

\* Si se observa pellet de ADN: transferir el pellet a un microtubo limpio que contenga agua

- \* Si no se observa pellet de ADN  
 Centrifugar a 14,000 rpm durante 10 minutos  
 Decantar el etanol  
 Secar las muestras y retirar etanol restante  
 Disolver el ADN en agua

**Apéndice B.** Muestras utilizadas para la extracción de ADN (60) con el protocolo de NaCl y cloroformo: alcohol isoamílico (Apéndice A; Miller *et al.*, 1988 como se detalla en Castella *et al.*, 2001). Ejemplares secuenciados en el presente estudio. Estado: CA: Campeche, CS: Chiapas, OX: Oaxaca, QR: Quintana Roo, VE: Veracruz, YU: Yucatán. Colecciones: Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias-UNAM (MZFC-M); El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal, Colección de Mamíferos (ECO-SC-M); CIIDIR Oaxaca, Colección Mastozoológica (CIIDIR-O).

Colección	Taxón	Estado	Localidad	Latitud	Longitud	Muestra	Año de Colecta
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	1 km SE de Cristóbal Colón	18.21916667	-88.52000556	6192	1998
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	62 km N de Xpujil, 6 km E, Camino a Rancho San Isidro, RB Calakmul	19.1	-89.28	6105	1998
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	Hampolol (Santiaguito)	19.9400	-90.37950	GHC649	2016
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	Narcizo Mendoza	18.25305556	-89.2927778	6203	1998
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	Terracería hacia Nohan	19.04430556	-91.09472222	GHC699	2016
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	X-bonil, UMA	18.51063889	-88.34986111	7032	2009
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	CA	Zona Arqueológica de Calakmul	18.1072222	-89.809444	6235	1998
MZFC-M	<i>C. brevicau</i>	CS	Porción N de la Omega,	16.898	-90.97363889	AEM042	1998

	<i>da</i>		Monumto. Nat. Yaxchilán				
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	CS	Zona Arqueológica Monumto. Nat. Yaxchilán	16.89822222	- 90.96458333	AEM163	1998
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	CS	Campamento Arqueológico del INAH de Yaxchilán	16.90097222	- 90.96938889	AEM171	1998
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	CS	Porción N de la Omega, Monumto. Nat. Yaxchilán	16.898	- 90.97363889	AEM216	1998
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	CS	Campamento Arqueológico del INAH de Yaxchilán	16.90097222	- 90.96938889	AEM111	1998
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	CS	Campamento Arqueológico del INAH de Yaxchilán	16.90097222	- 90.96938889	AEM120	1998
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CS	Rancho "Tres Hermanos"	15.57191667	- 93.01694444	PIJM012	2003
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CS	Rancho "Tres Hermanos"	15.57191667	- 93.01694444	PIJM003	2003
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CS	Zona Arqueológica Monumto. Nat. Yaxchilán	16.89822222	- 90.96458333	AEM291	1999
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CS	Zona Arqueológica Monumto. Nat. Yaxchilán	16.89822222	- 90.96458333	AEM254	1999
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	CS	Zona Arqueológica Monumto. Nat. Yaxchilán	16.89822222	- 90.96458333	SAM630	1997
MZFC-M	<i>C. brevicau da</i>	OX	Clemencia	18.255	-96.795	250	1993
CIIDIR-O	<i>C. brevicau da</i>	OX	Finca Juquilita 6.5km. Mpio. Pluma Hidalgo.	15.90	-96.45	3464	2004
CIIDIR-O	<i>C. brevicau da</i>	OX	Finca San Juanito. Mpio. Pluma Hidalgo.	15.96	-96.41	3499	2004

CIIDIR-O	<i>C. sowelli</i>	OX	La Mina, 3 km NE, Mpio. San Andrés Solaga	17.272027 78	- 96.24436111	5078	2014
CIIDIR-O	<i>C. sowelli</i>	OX	La Mina, 3 km NE, Mpio. San Andrés Solaga	17.272027 78	- 96.24436111	5079	2014
CIIDIR-O	<i>C. sowelli</i>	OX	Rancho Yajoni, 7.85 km NO Mpio. Santiago Camotlán	17.502555 6	- 96.21991667	4966	2012
CIIDIR-O	<i>C. sowelli</i>	OX	Rancho Yajoni, 7.85 km NO Mpio. Santiago Camotlán	17.502555 6	- 96.21991667	4967	2012
CIIDIR-O	<i>C. brevicauda</i>	OX	Río Molino, 4.79 km NNW Mpio. Candelaria Loxicha	15.966902 78	-96.5051333	4573	2010
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	Rumbo a Chalchijapa	17.076944 44	- 94.59916667	UMSP1 16	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	Rumbo a Chalchijapa	17.076944 44	- 94.59916667	UMSP1 09	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	Rumbo a Chalchijapa	17.076944 44	- 94.59916667	UMSP3 12	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	Rumbo a Chalchijapa	17.076944 44	- 94.59916667	UMSP3 29	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	San Isidro. La Gringa	17.103611 11	-94.1225	UMSP0 25	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	San Isidro. La Gringa	17.103611 11	-94.1225	UMSP1 92	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	San Isidro. La Gringa	17.103611 11	-94.1225	UMSP3 48	1995
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	OX	San Isidro. La Gringa	17.103611 11	-94.1225	UMSP3 49	1995
ECO-SC-M	<i>C. sowelli</i>	QR	1.5 km Oeste, 6 km Norte, Tres Garantías, El Naranjal	18.229166 67	-88.0741667	5410	1993

ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	QR	2.5 km N Calderitas	18.55444	-86.97667	6243	1998
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	QR	Botadero San Pastor	18.60922	-86.0741667	6040	1997
MZFC-M	<i>C. brevicauda</i>	QR	La Unión, 7 km N	17.95222222	-88.88222222	206HRP	1992
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	QR	Puente, km 13.7 carretera caseta de migración de Bacalar-Reforma	18.766833	-88.39813889	6536	2001
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	QR	Puente, km 13.7 carretera caseta de migración de Bacalar-Reforma	18.766833	-88.39813889	6554	2001
ECO-SC-M	<i>C. sowellii</i>	QR	Rancho Santa Lucia II a 8 km sureste del poblado La Laguna	18.786222	-88.2375	6572	2001
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Ignacio Zaragoza	19.85008333	-96.96327778	MRM061	2010
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Ignacio Zaragoza	19.85008333	-96.96327778	MRM062	2010
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Ignacio Zaragoza	19.98202778	-96.96111111	MRM069	2010
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Ignacio Zaragoza	19.98202778	-96.96111111	MRM078	2010
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Villa Nueva	19.77025	-96.86291667	MRM165	2010
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	San Felipe Cerro Quebrado I	20.00930556	-96.91725	MRM203	2011
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Pueblo Viejo	19.8175	-96.86922222	MRM218	2011
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Aticpac	18.652	-96.88863889	AZV59	2015
MZFC-M	<i>C. sowellii</i>	VR	Boqueron	18.6025556	-96.86875	AZV79	2015
MZFC-M	<i>C.</i>	VR	Ahuatepec	18.665833	-	AZV121	2015

	<i>sowellii</i>			3	97.02308333		
MZFC-M	<i>C. sowelli</i>	VR	Ahuatepec	18.6515833	-97.02308333	AZV136	2015
MZFC-M	<i>C. sowelli</i>	VR	Coxole	18.652	-96.96525	AZV183	2015
MZFC-M	<i>C. sowelli</i>	VR	Coxole	18.652	-96.96525	AZV197	2015
MZFC-M	<i>C. sowelli</i>	YU	Rancho Hobonil	20.00728	-89.02743	GHC619	2016

Apéndice C. Secuencias obtenidas del Genbank, corresponde a la región del citocromo b (1140 pb).

Taxón	País	Estado, localidad, etc.	Número de acceso	Abreviatura
<i>Carollia sowelli</i>	Costa Rica	Limón, Estación Biológica Cano Palma	AF511973.1	Cso_Costa Rica
<i>Carollia sowelli</i>	Costa Rica	Tortuga Lodge	AF511972.1	Cso_Costa Rica
<i>Carollia sowelli</i>	Panamá	Chiriqui, Ojo de Agua	AF511971.1	Cso_Panama
<i>Carollia sowelli</i>	Honduras	Comayagua, Cueva de Taulabe	AF511970.1	Cso_Honduras
<i>Carollia sowelli</i>	Honduras	Comayagua, Cueva de Taulabe	AF511969.1	Cso_Honduras
<i>Carollia sowelli</i>	Honduras	Francisco Morazan, Parque Nacional La Tigra	AF511968.1	Cso_Honduras
<i>Carollia sowelli</i>	Honduras	Francisco Morazan, Parque Nacional La Tigra	AF511967.1	Cso_Honduras
<i>Carollia sowelli</i>	Honduras	Francisco Morazan,	AF511966.1	Cso_Honduras



		Parque Nacional La Tigra		
<i>Carollia sowellii</i>	Guatemala	Poptun	AF511965.1	Cso_Guatemala
<i>Carollia sowellii</i>	México	Chiapas, Agua Azul	AF511964.1	Cso_Chiapas
<i>Carollia sowellii</i>	México	Tabasco, Jonuta	AF511963.1	Cso_Tabasco
<i>Carollia sowellii</i>	Guatemala	Poptum	AF511962.1	Cso_Guatemala
<i>Carollia sowellii</i>	México	Quintana Roo, Laguna Noh-Bec	AF511961.1	Cso_Quintana Roo
<i>Carollia subrufa</i>	México	Jalisco, Chamela	AF187023.1	Carollia_subrufa