

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

### **POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGÍA EVOLUTIVA

### (PROYECTO)

Análisis filogenético de murciélagos de la subtribu Vampyressina

(Phyllostomidae: Stenodermatinae) con datos morfológicos y moleculares

# TESIS

# (POR ARTÍCULO CIENTÍFICO)

Looking for synapomorphies: evaluation of skull shape characters for

phylogenetic reconstruction of Vampyressine bats

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

# MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

### SARA CAROLINA LUCERO VERDUGO

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM DR. JUAN FRANCISCO EFRAÍN DE LUNA GARCÍA INECOL - INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

AGOSTO, 2024



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.

## PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL

(Graduación con trabajo escrito)

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo a lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

Análisis filogenético de murciélagos de la subtribu Vampyressina (Phyllostomidae: Stenodermatinae) con datos morfológicos y moleculares

Que presenté para obtener el grado de MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, es original, de mí autoría y lo realicé con rigor metodológico exigido por el Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referenciadas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de obtención de mi grado académico.

Atentamente LUCERO VERDUGO SARA CAROLINA No de cuenta UNAM: 414001819 (Nombre, firma y número de cuenta del estudiante)



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

### POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

# (PROYECTO)

Análisis filogenético de murciélagos de la subtribu Vampyressina

(Phyllostomidae: Stenodermatinae) con datos morfológicos y moleculares

# TESIS

### (POR ARTÍCULO CIENTÍFICO)

Looking for synapomorphies: evaluation of skull shape characters for

phylogenetic reconstruction of Vampyressine bats

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

# MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

### SARA CAROLINA LUCERO VERDUGO

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM DR. JUAN FRANCISCO EFRAÍN DE LUNA GARCÍA INECOL - INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

AGOSTO, 2024





COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS FACULTAD DE CIENCIAS OFICIO: CGEP/CPCB/FC/0555/2024

ASUNTO: Oficio de Jurado

#### M. en C. Ivonne Ramírez Wence Directora General de Administración Escolar, UNAM Presente.

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de mayo de 2024 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en el campo de conocimiento de Biología Evolutiva del (la) alumno(a) LUCERO VERDUGO SARA CAROLINA con número de cuenta 414001819 por la modalidad de graduación de tesis por artículo científico titulado: "Looking for synapomorphies: evaluation of skull shape characters for phylogenetic reconstruction of Vampyressine bats", que es producto del proyecto realizado en la maestría que lleva por título "Análisis filogenético de murciélagos de la subtribu Vampyressina (Phyllostomidae: Stenodermatinae) con datos morfológicos y moleculares" ambos realizados bajo la dirección del (la) DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente:	DR. JUAN JOSÉ MORRONE
Vocal:	DR. JOAQUIN ARROYO CABRALES
Vocal:	DR. LÁZARO GUEVARA LÓPEZ
Vocal:	DRA. SANDRA MILENA OSPINA GARCÉS
Secretario:	DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERÓN

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU" Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 30 de julio de 2024

### **COORDINADOR DEL PROGRAMA**

DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO



c. c. p. Expediente del alumno

ACBB/AAC/GEMF/EARR/mnm

#### COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX Tel. (+5255)5623 7002 http://pcbiol.posgrado.unam.mx/

### AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Conahcyt, por la beca otorgada durante los estudios de maestría (no. 959420).

A mi tutora, la Dra. Livia S. León Paniagua, y los miembros de mi comité tutor: Dr. Alejandro Zaldívar Riverón y Dr. Efraín De Luna García, por su valioso apoyo, recomendaciones y los conocimientos adquiridos durante la realización de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindar herramientas, espacios y oportunidades a sus estudiantes.

### AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Agradezco nuevamente a todas las personas nombradas en los agradecimientos institucionales, porque las recomendaciones y enseñanzas que me instruyeron no solamente me ayudaron en lo profesional, sino también en lo personal.

Familia, amigos y amigas no podían faltar en este espacio de agradecimientos personales. Gracias por su apoyo, ánimo y, sobre todo, por su paciencia y comprensión por los momentos que me perdí por mis estudios. Gracias a este círculo de apoyo pude concluir esta etapa de mi vida que me fortaleció en todos los aspectos. Especialmente a mi esposo Ángel, por todo tu apoyo incondicional, gracias, gracias y más gracias.

Gracias a los artistas, por la música, libros y material artístico que ayuda a despejar la mente e invitan a la relajación en momentos de alta presión.

Gracias a las y los investigadores que aportan su granito de arena en sus estudiantes, de una manera humana, amable y respetuosa, por motivar en vez de oscurecer panoramas.

Gracias a todas las mujeres en la ciencia, sepan que todas son inspiración para muchas.

Gracias a todas las personas que se dedican a la ciencia, que entraron al mundo del posgrado y han compartido sus experiencias que alientan e inspiran a quienes pasan por lo mismo. Gracias por su perseverancia en que tengamos un mundo mejor.

### DEDICATORIA

A Benito, José, Enriqueta y Rossy: sepan que lo logré

# ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN GENERAL	4
MANUSCRITO DEL ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN	8
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	

### RESUMEN

A pesar de ser uno de los grupos de murciélagos más estudiado en América, algunas relaciones filogenéticas dentro de la familia Phyllostomidae permanecen inciertas. La subtribu Vampyressina (Subfamilia Stenodermatinae), con siete géneros y 43 especies, es uno de los clados más diversos dentro de los filostómidos, y sus eventos de diversificación tempranos aún muestran discrepancias y bajos soportes en propuestas recientes. Estudios ecomorfológicos han mostrado que la forma del cráneo desempeñó un papel relevante en la evolución de los filostómidos. Por lo tanto, la información filogenética en la variación de la forma del cráneo podría ayudar a resolver las relaciones dentro de los vampiresinos que continúan inciertas. En este estudio, se realizó una reconstrucción filogenética con datos moleculares y morfológicos, bajo el criterio de Parsimonia, incluyendo seis módulos del cráneo obtenidos con morfometría geométrica de las vistas dorsal, ventral y lateral, cada uno refiriéndose al neurocráneo y rostro, así como Cyt-b, COI, Dloop y RAG2. Los análisis separados de datos moleculares y morfológicos mostraron diferentes hipótesis, principalmente en el clado del género Vampyriscus. Se obtuvieron los índices filogenéticos de los caracteres de forma, y también fueron evaluados con una prueba de señal filogenética. Ambos métodos indicaron consistentemente que los módulos del rostro aportan información filogenética, especialmente en la región del fronto-nasal (vista lateral del cráneo), contrario a los módulos del neurocráneo. El árbol más parsimonioso mostró valores de jackknife con alto soporte en los nodos de géneros, pero bajo soporte en los nodos internos y de diversificación temprana de la subtribu. Sin embargo, se obtuvieron las sinapomorfías de la forma del cráneo de los murciélagos vampiresinos, que coinciden con la relevancia de los sistemas sensoriales y ecología de este grupo, que están ligadas al olfato, ecolocalización nasal y alimentación. Nuestros resultados resaltan las regiones del cráneo que aportan información filogenética y que, por lo tanto, podrían ser de gran utilidad

en futuras reconstrucciones filogenéticas de la subtribu. Todavía falta esclarecer información anatómica de los sistemas sensoriales, especialmente del olfato, que podrían ayudar a ilustrar mejor la historia evolutiva de este grupo altamente diverso.

### ABSTRACT

Despite being one of the most studied groups of bats, some phylogenetic relationships within the family Phyllostomidae remain unclear. The subtribe Vampyressina (Subfamily Stenodermatinae), with seven genera and 43 species, is one of the most diverse clades within phyllostomids and its early cladogenetic events are still showing discrepancies and low support in recent proposals. Ecomorphological studies have shown that the shape of the skull played a key role in the evolution of phyllostomids; therefore, the phylogenetic information in the cranial shape variance may help resolve the relationships within vampyressines. Here, in combination with molecular and morphological data, we performed a phylogenetic reconstruction under Parsimony, including six skull geometric configurations of dorsal, ventral and lateral views, obtained with a two-dimensional geometric morphometric protocol, referring each to the neurocranium and rostrum. We obtained the phylogenetic indexes to each shape character, and also evaluated its phylogenetic signal using a comparative approach. Both methods consistently indicated that the shape characters derived from the rostrum have phylogenetic information, especially the frontonasal region (lateral view of the rostrum), contrary to the neurocranium characters. The most parsimonious tree showed jacknife values with high support in the genera nodes. but low supports in the internal and early diversification nodes of the subtribe. However, we got skull shape synapomorphies of vampyressines bats, that match with the relevance of the sensorial systems and ecology of this group, that are related to olfaction, nasal echolocation and feeding process. Our results highlight which regions of the skull add phylogenetic information, and therefore, may be helpful in future phylogenetic reconstructions of the subtribe. There is still anatomic information on the sensorial systems of vampyressines, especially olfaction, that remains unknown, and that may help to better elucidate the evolutionary history of this highly diverse group.

### INTRODUCCIÓN GENERAL

La familia de murciélagos Phyllostomidae ha sido ampliamente estudiada debido a que es considerada como la más numerosa y predominante en la región del Neotrópico, con más de 200 especies y alrededor de 60 géneros (Wetter et al., 2000; Baker et al. 2003; Simmons, 2005; Baker et al., 2016; Cirranello et al., 2016). Su gran diversidad en número también se ve reflejada en su morfología, ya que exhiben la gama más grande de formas craneales que, de acuerdo con estudios ecomorfológicos, ha sido resultado de una rápida radiación adaptativa (Monteiro y Nogueira, 2011; Dumont et al., 2014; Rossoni et al., 2017). A lo largo de décadas, se han hecho numerosos estudios que han buscado describir y explicar las relaciones filogenéticas y patrones evolutivos que han dado como resultado la gran diversidad presente en murciélagos filostómidos, lo que ha llevado a la consideración de que su ecología está bien comprendida (Dávalos, et al., 2012). Sin embargo, aún faltan por esclarecer aspectos taxonómicos entre las relaciones filogenéticas de algunos géneros dentro de la familia (Baker, et al., 1994; Villalobos y Valerio, 2002; Lim, et al., 2003; Velazco, et al., 2004; Redondo, et al., 2008; Velazco y Patterson, 2008; Dávalos, et al., 2012; Velazco y Lim, 2014; Tavares, et al., 2014; Cuadrado-Ríos y Mantilla-Meluk, 2016).

Si bien las filogenias más recientes en Phyllostomidae parecen estar completamente resueltas (Botero-Castro et al., 2013; Rojas et al., 2016; Tavares et al. 2018; Camacho et al., 2022), aún existen valores bajos de soporte y discrepancias filogenéticas en algunos nodos internos, particularmente dentro de la subtribu Vampyressina (subfamilia Stenodermatinae), la cual está compuesta por aproximadamente 43 especies distribuidas en los 7 géneros: *Chiroderma, Mesophylla, Platyrrhinus, Uroderma, Vampyressa, Vampyriscus* y *Vampyrodes* (Baker et al., 2003; Gomes et al. 2016). Las primeras construcciones filogenéticas de los murciélagos vampiresinos se basaron en caracteres morfológicos enfocados en los niveles de familia y subfamilia (Owen 1987; Lim 1993), cuyos

resultados sugirieron que el género Ectophylla es grupo hermano de Vampyressa y Vampyriscus, relación que fue aceptada durante varios años. Posteriormente, los enfoques alternativos basados en cariotipos y estudios moleculares mostraron una relación más estrecha entre Ectophylla y otras especies de estenodermatinos (Baker et al. 2003; Hoofer y Baker 2006; Hoofer et al. 2008; Gomes et al. 2016), resultados que expusieron que Ectophylla no formaba parte de la subtribu Vampyressina. En años más recientes, una hipótesis filogenética basada en caracteres moleculares, mostró al género Uroderma como el primer linaje que divergió de los vampiresinos, siendo el grupo hermano de los seis géneros restantes de la subtribu (Rojas et al., 2016). No obstante, otro árbol filogenético basado en una metodología integrativa que combina datos moleculares y morfológicos, sugiere una historia distinta en la primera divergencia de la subtribu Vampyressina, que consiste en dos linajes principales: con los grupos de Platyrrhinus, Vampyrodes y Uroderma como grupo hermano de los géneros restantes (Tavares et al. 2018). Otra inconsistencia entre las filogenias moleculares y morfológicas estaba relacionada con la monofilia del género Vampyressa. Morfológicamente, este clado solía incluir las especies V. bidens, V. brocki, V. nymphaea, V. pusilla, V. melissa y V. thyone (Owen, 1987; Wetter et al., 2000); pero estudios moleculares sugirieron que V. bidens, V. brocki y V. nymphaea pertenecen al género Vampyriscus (Porter y Baker, 2004; Hoofer y Baker, 2006). En la recopilación de las hipótesis de la posible historia de la subtribu Vampiressina, se observa que desde los primeros estudios se han encontrado inconsistencias en las topologías de los árboles resultantes, lo que indica que aún falta por resolver y encontrar los caracteres, muestreo y metodología adecuada que logren resultar en hipótesis más robustas y consistentes.

Por otra parte, bajo un enfoque morfológico, la mayoría de los estudios comparativos de murciélagos filostómidos y estenodermatinos han utilizado la forma del cráneo obtenida con técnicas de morfometría geométrica y de modularidad para estudiar la diversificación

temprana de los taxones, la cual se ha vinculado con las implicaciones ecológicas en su evolución (Sorensen et al. 2014; Rossoni et al. 2019; Hedrick et al. 2020; Hall et al. 2021). Por lo tanto, los caracteres de forma obtenidos por técnicas de morfometría geométrica pueden ser útiles para mejorar la hipótesis filogenética de los murciélagos vampiresinos. Desde la década de 1980, la morfometría geométrica, definida como el análisis estadístico de la forma y su correlación con otras variables (Bookstein, 1991), ha tomado un gran auge en estudios morfológicos, comparativos y evolutivos. Esto debido a que su metodología permite mantener constante la información relacionada únicamente a la forma biológica a lo largo de los análisis estadísticos; un atributo principal que la diferencia de la morfometría tradicional o lineal (Adams, et al., 2013). En virtud de ello, la gran popularidad de la morfometría geométrica ha sido considerada como una revolución (Rohf y Marcus, 1993; Adams et al., 2013). No obstante, ambas aproximaciones no son reemplazables o sustituibles una a la otra, más bien, son un complemento dadas las aportaciones y limitaciones de cada una (Solis-Zurita et al. 2019; Palci y Lee, 2019; De Luna, 2020).

Las relaciones filogenéticas de Phyllostomidae y Stenodermatinae más aceptadas hoy en día, que se basan en enfoques moleculares y morfológicos combinados (Rojas et al., 2016; Tavares et al. 2018), muestran que las principales incongruencias filogenéticas se ubican en los primeros eventos de diversificación de la subtribu. Varios factores podrían promover resultados diferentes, como el muestreo taxonómico, el tipo y número de caracteres incluidos y métodos utilizados para estimarlos (Dávalos et al. 2012). En este sentido, el uso de datos moleculares nos permite analizar una gran cantidad de caracteres, pero la adición de diferentes caracteres con información filogenética potencial podría ayudar a mejorar las construcciones filogenéticas, como se ha mostrado con otros taxones (Ospina-Garcés y León-Paniagua, 2022; Solís-Zurita et al. 2019). Los avances en los métodos filogenéticos, tanto moleculares como morfológicos, permiten la combinación de ambos conjuntos de

datos que podría resultar en nuevas hipótesis filogenéticas o nodos con mayor soporte (Padial et al. 2010; Galimberti et al., 2015; Ospina-Garcés y León-Paniagua, 2022; Solís-Zurita et al., 2019; Solari et al., 2019).

Debido a lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo exploramos la información filogenética potencial de los caracteres de forma del cráneo de los siete géneros de la subtribu Vampyressina. Con evidencia molecular y morfológica, sugerimos una nueva hipótesis filogenética de murciélagos vampiresinos. Además, discutimos qué caracteres del cráneo podrían ser informativos en una reconstrucción filogenética de la subtribu. Con el enfoque de evidencia total de este trabajo, se espera recuperar la monofilia de la subtribu, además de un mayor soporte en los primeros nodos de diversificación de la subtribu, cuyos antecedentes continúan mostrando bajo soporte. Es posible que, con mayor evidencia de datos, se pudiera llegar a una congruencia entre datos morfológicos y moleculares.

### MANUSCRITO DEL ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Looking for synapomorphies: evaluation of skull shape characters for phylogenetic reconstruction of Vampyressine bats Sara Carolina Lucero-Verdugo<sup>1,2</sup>, Sandra Milena Ospina-Garcés<sup>3</sup>, Giovani Hernández-

Canchola<sup>4</sup>, and Livia León-Paniagua<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Colección de Mamíferos – Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera", Departamento de Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Biológicas, Unidad de Posgrado, Edificio D, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos 62209, México

<sup>4</sup>Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México

\*To whom correspondence should be addressed: <u>llp@ciencias.unam.mx</u>

#### ABSTRACT

Despite being one of the most studied groups of bats, some phylogenetic relationships within the family Phyllostomidae remain unclear. The subtribe Vampyressina, with seven genera and 43 species, is one of the most diverse clades within phyllostomids and its early cladogenetic events are still showing discrepancies and low support in recent proposals. Ecomorphological studies have shown that the shape of the skull played a key role in the evolution of phyllostomids; therefore, the phylogenetic information in the cranial shape variance may help resolve the relationships within vampyressines. Here, in combination with molecular and morphological data, we performed a phylogenetic reconstruction under Parsimony, including six skull geometric configurations of dorsal, ventral and lateral views, obtained with a two-dimensional geometric morphometric protocol, referring each to the neurocranium and rostrum. We obtained the phylogenetic indexes to each shape character, and also evaluated its phylogenetic signal using a comparative approach. Both methods consistently indicated that the shape characters derived from the rostrum have phylogenetic information, especially the rostrum of the lateral view, contrary to the neurocranium characters. The most parsimonious tree showed jacknife values with high support in the genera nodes, but low supports in the internal and early diversification nodes of the subtribe. However, we got skull shape synapomorphies of vampyressines bats, that likely are related to olfaction, nasal echolocation and feeding process. Our results highlight which regions of the skull add phylogenetic information, and therefore, may be helpful in future phylogenetic reconstructions of the subtribe. There is still anatomic information on the sensorial systems of vampyressines, especially olfaction, that remains unknown, and that may help to better elucidate the evolutionary history of this highly diverse group.

#### **RESUMEN**

A pesar de ser uno de los grupos de murciélagos más estudiados, algunas relaciones filogenéticas dentro de la familia Phyllostomidae permanecen inciertas. La subtribu Vampyressina, con siete géneros, es uno de los clados más diversos dentro de los filostómidos, y sus eventos de diversificación tempranos aún muestran discrepancias y bajos suportes en propuestas recientes. Estudios ecomorfológicos han mostrado que la forma del cráneo desempeñó un papel relevante en la evolución de los filostómidos. Por lo

tanto, la información filogenética en la variación de la forma del cráneo podría ayudar a resolver las relaciones dentro de los vampyresinos que continúan inciertas. En este estudio, en combinación con datos moleculares y morfológicos, se realizó una reconstrucción filogenética bajo el criterio de Parismonia, incluyendo seis módulos del cráneo obtenidos con morfometría geométrica de las vistas dorsal, ventral y lateral, cada uno refiriéndose al neurocráneo y rostro. Se obtuvieron los índices filogenéticos de los caracteres de forma, y también fueron evaluados con una prueba de señal filogenética. Ambos métodos indicaron consistentemente que los módulos del rostro aportan información filogénetica, especialmente el rostro en la vista lateral, contrario a los módulos del neurocráneo. El árbol más parsimonioso mostró valores de jacknife con alto soporte en los nodos de géneros, pero bajo soporte en los nodos internos y de diversificación temprana de la subtribu. Sin embargo, se obtuvieron las sinapomorfías de la forma del cráneo de los murciélagos vampyressinos, que están ligadas al olfato, ecolocalización nasal y alimentación. Nuestros resultados resaltan las regiones del cráneo que aportan información filogenética y que, por lo tanto, podrían ser de gran utilidad en futuras reconstrucciones filogenéticas de la subtribu. Todavía falta esclarecer información anatómica de los sistemas sensoriales, especialmente del olfato, que podrían ayudar a ilustrar mejor la historia evolutiva de este grupo altamente diverso.

Keywords: Cranial evolution, frugivores bats, geometric morphometrics, systematics Palabras clave: evolución craneal, murciélagos frugívoros, morfometría geométrica, sistemática

### **TEASER TEXT**

In the attempt to understand the evolution of a highly diverse group of frugivore bats, the Vampyressine subtribe, we include the shape of their skull in a phylogenetic analysis. The results indicate that the shape of the rostrum and palate of these bats carry significant information about their evolution, contrary to the shape of the cranial vault. There is extensive information that remains unknown about the anatomy of the sensorial systems of these animals, such as olfaction and echolocation, and that explain the skull shape changes that we found. Furthermore, the natural history of Vampyressine bats strongly suggests a rapid evolution linked with the diet specialization in frugivory, which remarks the importance of still conducting research projects under an integrative approach, that would help to better understand the evolution of these diverse bats.

### **INTRODUCTION**

Highly diverse clades easily have amazed and intrigued biologists in attempt to explain and understand the components of their divergence and evolution, but such task is far from being easy, and bats of the Phyllostomidae family are not the exception (Rojas et al. 2012; Upham et al. 2019). Within Chiroptera, New World leaf-nosed bats are well known for being one of the most diverse clades, not only in species richness but also in morphology and ecology (Freeman 2000; Dumont et al. 2012; Baker et al. 2016). The advances in the study of this bat family have even stated that their ecology is relatively well understood (Dávalos et al. 2012); however, phylogenetic and taxonomic aspects are still not well clarified in some clades within the family (Dávalos, et al., 2012; Velazco y Lim, 2014; Tavares, et al., 2014). The most recent and complete phylogenies proposed, with different approaches and data, still show inconsistencies. Particularly in the subtribe Vampyressina, which is composed of approximately 43 species and seven genera: *Chiroderma, Mesophylla*, *Platyrrhinus*, *Uroderma*, *Vampyressa*, *Vampyriscus*, and *Vampyrodes* (Baker et al., 2003; Gomes et al. 2016).

Early phylogenetic constructions of vampyressine bats were based on morphological characters focused on family and subfamily levels (Owen 1987; Lim 1993). These studies suggested that the monotypic genus *Ectophylla* was sister to *Vampyressa* and *Vampyriscus*, and this relationship was accepted for several years. Alternative approaches based on karyotypes and molecular studies showed a closer relationship between *Ectophylla* and other stenodermatines (Baker et al. 2003; Hoofer and Baker 2006; Hoofer et al. 2008; Gomes et al. 2016), thus *Ectophylla* was no longer part of the subtribe Vampyressina. Additionally, one of the most complete molecular-based phylogenies shows Uroderma as the sister of the remaining Vampyressina genera (Rojas et al. 2016), but a molecular and morphological phylogeny shows two principal lineages between vampyressine bats: *Platyrrhinus, Vampyrodes,* and *Uroderma* as a sister group of the remaining genera (Tavares et al. 2018) (Fig. 1). Another phylogenetic inconsistency between molecular and morphological phylogenies was related to the monophyly of the genus Vampyressa. Morphologically, this clade used to include the species V. bidens, V. brocki, V. nymphaea, V. pusilla, V. melissa, and V. thyone (Owen, 1987; Wetter et al. 2000); but molecular studies suggested that V. bidens, V. brocki, and V. nymphaea belongs to the genus Vampyriscus (Porter and Baker, 2004; Hoofer and Baker, 2006).

Even though the most recent phylogenies in Phyllostomidae seem to be fully resolved (Botero-Castro et al. 2013; Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018; Camacho et al., 2022), there still are low support values and phylogenetic discrepancies in some internal nodes within the subtribe Vampyressina. In other words, the morphological phylogenies (Owen

1987; Lim 1993) did not recover some of the phylogenetic relationships most accepted nowadays, which are based on molecular or combined approaches (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018), in which the main phylogenetic incongruences are placed at the early diversification events of the subtribe. Several factors could promote different results, such as the taxonomic sampling, the kind and number of characters included, and the methods used to estimate them (Dávalos et al. 2012). In this sense, using molecular data allows us to analyze a high number of characters, but the addition of different characters with potential phylogenetic information may help us to improve phylogenetic constructions, as has been reported in other taxa (Ospina-Garcés and León-Paniagua, 2022; Solis-Zurita et al. 2019).

Previous ecomorphological studies have used the shape of the skull and modularity hypothesis to study the early diversification of the taxa in phyllostomid and stenodermatine, linked with the ecological implications in their evolution (Sorensen et al. 2014; Rossoni et al. 2019; Hedrick et al. 2020; Hall et al. 2021). Furthermore, a method equivalent to standard parsimony analysis for shape characters was developed using geometric morphometrics techniques (Catalano et al. 2010), which allows searching for ancestral landmark configurations by spatial optimization. The development of this method has allowed us to explore new phylogenetic hypotheses for different taxa (Ospina-Garcés and León-Paniagua, 2022; Solis-Zurita et al. 2019). Therefore, shape characters obtained by geometric morphometrics techniques, in combination with molecular data, may be helpful to improve the phylogenetic hypothesis of the vampyressine. One of the advantages of geometric morphometrics techniques is that it makes it possible to analyze independently size from the shape (Klingenberg, 2016), which allows testing the effect of centroid size

(CS) on shape variance among species using allometry analysis and later to evaluate only shape related information.

Hence, in this study, we explore the potential phylogenetic information of shape characters of the skull of the seven genera of the subtribe Vampyressina. We suggest a new phylogenetic hypothesis of vampyressine bats from a combined matrix, with molecular and morphological evidence. In addition, we discuss which skull characters could be informative in a phylogenetic reconstruction of the subtribe.

### MATERIALS AND METHODS Morphological data

The seven genera of the Vampyressina subtribe (*Platyrrhinus*, *Vampyrodes*, *Chiroderma*, *Vampyriscus*, *Vampyressa*, *Mesophylla*, and *Uroderma*) were represented by 12 species; *Artibeus jamaicensis* and *Sturnira hondurensis* were selected as outgroups (Rojas et al. 2016). Morphological characters (continuous and discrete) were obtained from 191 specimens (see Appendix I) among the following mammal collections: Museo de Zoología "Alfonso. L. Herrera" at the Universidad Nacional Autónoma de México (Mexico City, Mexico); the National Museum of Natural History (Washington DC, United States); the American Museum of Natural History (New York City, New York, United States); the Colección Nacional de Mamíferos at the Universidad Nacional Autónoma de México (Mexico City, Mexico); and the Museum of Vertebrate of Zoology at the University of California (Berkeley, California, United States).

Linear measurements, morphological (discrete) and shape characters

We only included adult female specimens for analyzes; adults were classified based on phalange ossification and the presence of sagittal crest in species that have it (Kunz and Anthony 1982). We aimed to include the morphological variation within species, so we tried to collect data from ~ 15 individuals per species (n = 3 - 20). For the morphological discrete data, we followed Wetter et al. 2000 as a guide for recording 14 informative characters of the skull, dentition, and skin (see Supplementary Data SD1).

Shape variation and linear measurements were acquired from digital photographs of the ventral, dorsal, and lateral views of skulls, using two-dimensional landmark coordinates. Photographs were taken with a Nikon D5500 camera and an AF-S Micro Nikkor 60 mm lens (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) using a tripod and a 10 mm bar scale, always considering the same distance from the lens and same position in all specimens. Landmarks and semilandmarks were placed in previously reported anatomical structures of functional relevance (Porto et al. 2009) using TPSdig 2.31 (Rohlf, 2017). Semilandmarks were placed using the tool of curves that later were converted into landmarks in TPSutil 1.78 (Rohlf, 2019; see Supplementary Data SD2). Geometric morphometrics processing and analysis of geometric configurations were carried out in the packages geomorph 4.0.5 and RRPP 1.1.2. (Baken et al. 2021; Adams et al. 2022; Collyer and Adams 2018; Collyer and Adams, 2021), in the R program version 3.6.3 (R Core Team 2020). Furthermore, a subsample of 68 specimens of each view was digitized twice to test the digitization error with a Procrustes ANOVA mode, which means the effect of the replication on the shape variance. Two-dimensional coordinates matrices derived from the three geometric configurations analyzed were separately superimposed with a General Procrustes Analyses using the gpagen function, which removes variation related to scale, translation, and rotation

(Zelditch et al. 2012); semilandmarks were aligned using Procrustes distance parameter (Gunz and Mitteroecker 2013). Previous to the superimposition process, we obtained a size estimator of geometric configurations, the Centroid Size (CS), calculated as the square root of the sum of distances of the landmarks of the configurations (Klingenberg, 2016; De Luna, 2020). The shape of the skull in the ventral and dorsal views that were digitalized covering both sides of the symmetric axes, and later we got the symmetric component of the variation. We obtained the means from both sides using the bilat.symmetry function and used it in the subsequent analyses. Additionally, eight inter-landmark distances were obtained from the landmark configurations of the ventral and dorsal views (see Supplementary Data SD3) with the *interlmkdist* function, and then averaged and standardized it by range with the script (0-1; Solis-Zurita et al. 2019; De Luna, 2020).

#### Allometry

To evaluate the amount of shape variance explained by CS differences we executed a Procrustes ANOVA model with shape as a dependent variable and CS as covariable, adding the effect of the interaction between CS and species, in the three views of the skull. To identify differences in allometric trends among species, we performed pairwise comparisons of species allometric vectors with the *pairwise* function, measuring the distances among vector lengths of species (Collyer and Adams, 2013). The significance of pairwise comparisons was tested using a permutation procedure on the original data, with 1000 replicates, testing the null hypothesis of vector distances = 0. These procedures were performed in the package RRPP 1.1.2 (Collyer and Adams, 2018; Collyer and Adams, 2021).

### Modularity

Previous morphological and developmental studies of mammalian skull modularity have found that the skull is compounded by several structures or modules, which suggests that each module may have its own single evolutionary trajectory (Marroig et al. 2009; Porto et al. 2009). Moreover, Rossoni et al. (2019) suggested a lower integration of face and neurocranium regions and speciation of phyllostomids skull. Following the skull modularity hypothesis suggested by Marroig et al. 2009 and Porto et al. 2009, lateral and dorsal views were divided into two modules corresponding to the neurocranium and rostrum. Similarly, the ventral view was divided into the neurocranium and palatine modules. These modularity hypotheses were tested with the *phylo.modularity* function, which quantifies the modularity level between two or more modules in a phylogenetic approach, using the CR coefficient, which is the ratio of the covariation between modules relative to the covariation within them (Adams 2016). For this analysis, we use the pruned phylogeny suggested and kindly shared by Rojas et al. 2016 and assign the P value based on a permutation procedure with 1000 replicates. Six landmark configurations (shape characters) were obtained and used in the posterior analysis (Fig. 2).

### Phylomorphospace and phylogenetic signal

To explore and quantify the components of the skull shape variation, we performed a Principal Component Analysis (PCA) of the species' mean shapes projected into a phylogeny to obtain the *phylomorphospace* plots. Also, we obtained the transformation grids, which show the direction and magnitude of change of each landmark in the shapes. We indicated the changes in the shapes of the extreme specimens of PC1 and PC2 from the consensus shape as a reference to describe the magnitude and direction of more divergent species in shape. We also used the *physignal* function to evaluate the degree of

phylogenetic signal of each module, using the Brownian motion model as the expected model of evolution (Adams 2014). This function estimates the degree of phylogenetic signal of shape data in comparison to what is expected under a Brownian motion model of evolution, using a multivariate version of the k-statistic or "kappa", known as K<sub>mult</sub> (Blomberg et al. 2003; Adams 2014). For these two analyses -phylomorphospace and phylogenetic signal- we used again the pruned phylogeny shared by Rojas et al. 2016.

### Molecular data

Molecular characters for phylogenetic analyses consisted of four loci. We downloaded from GenBank 127 sequences (see Appendix I) from the mitochondrial Cytochrome b (Cyt-b: 50), Cytochrome c oxidase subunit I (COI: 30), and Dloop (20), and the nuclear Recombination activating gene 2 (RAG2: 27), obtaining a total of 2950 base pairs from the 14 vampyressine species. The genes Cyt-b, RAG2, and COI sequences were manually aligned, while Dloop was aligned with ClustalW in MEGA 10.1.8 (Kumar et al. 2018). Phylogenetic analysis. We follow Solis-Zurita, et al. 2019 methods as a guide to obtain our reference tree with all molecular and morphological (discrete and continuous) data combined. The mean shapes of the six landmark configurations were obtained in geomorph, and later converted into the TNT format with the "LMs4tnt" program (Sandria and De Luna, 2016). We added the means and consensus of morphological continuous and discrete data to the data matrix, and we also included the consensus sequences from each molecular marker calculated in SeaView 5.0.1, which identify the most frequent sequence of its frequency above 60% at any site (Gouy et al. 2010). The combined data matrix includes 2978 characters in total (2950 pb, 8 linear measurements, 13 morphological discrete and 6 shape characters), which was analyzed under parsimony criterion in the program TNT 1.5

(Goloboff et al. 2016) following the proposal of Catalano et al. 2010. The searching algorithms were sectorial search, drift, and ratchet. Additionally, we estimated a shape optimization with 10 cells and 2 nest grid calculations with the same searching parameters. We kept the most parsimonious tree. Node supports were estimated with Jacknife resampling with 1000 iterations and 36% of characters removal with the same searching parameters. Also, we obtained the tree lengths, and retention (RI), and consistency (CI) indices in TNT using the script "LMstats.run" kindly provided by Santiago Catalano.

Additionally, for the molecular data, we performed a phylogenetic analysis of the concatenated matrix including the consensus sequences of each molecular marker (cytochrome-b/ cytochrome oxidase I / Dloop / RAG2: n = 14), using a Bayesian Inference (BI) and a Maximum Parsimony (MP) approach. In all loci, except for Dloop, we selected the best partition divided by codon positions and the best substitution model in PartitionFinder 2 (Lanfear et al. 2017), through an exhaustive search among all available models in MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012), and using the corrected Akaike Information Criterion (AICc). With this model, we parameterized BI using three hot and one cold chains in two independent runs of 10 million generations, sampling data every 1,000 iterations. We checked for convergence of the MCMC by examining trace plots and sample sizes in Tracer (Rambaut et al. 2018). We constructed a majority rule consensus tree considering a burn-in of 25%.

Finally, we performed a phylogenetic analysis on a concatenated matrix with only morphological data: 8 linear measurements, 13 morphological discrete and 6 shape characters (n= 14), with the parsimony criteria in TNT 1.5 and searching algorithms sectorial, drift, and ratchet.

#### RESULTS

For shape data we defined how many characters will be use. In each of the three views of the skull, the variation related to digitization error was less than 0.001% and non-significant (p>0.05). Results of the bilat symmetry test reveal low levels of fluctuating asymmetry patterns of the dorsal and ventral views (Dorsal: Rsq= 0.02096, F= 46.948, P< 0.05; Ventral: Rsq= 0.002695, F= 20.355, P< 0.). This allowed us to keep only one of the sides. Thus, the symmetric component of both views was used for the subsequent analysis of ventral and dorsal configurations. The degree of phylogenetic modularity obtained according to the covariance ratio (Adams 2016) was significant (CR <1; P <0.05) for the two modules tested in each of the three views (lateral, dorsal, and ventral) and including a Bootstrap analysis for each with 1,000 replicates. Hence, according to these results and the ontogenetic origins of each module previously reported (Marroig et al. 2009; Porto et al. 2009), we decided to keep the six modules in total corresponding to the neurocranium and rostrum for the phylomorphospace, phylogenetic signal analyses and phylogenetic reconstructions as shape characters.

#### Allometry

Results of the Procrustes ANOVA testing the allometric effect revealed only a significant interaction between shape and CS in the lateral view of the skull of a few species according to the pairwise comparisons, and non-significant effect of CS on shape variance in the modules of the dorsal and ventral view (see Supplementary Data SD4). An optimization of the CS on the pruned tree of Rojas et al. 2016 showed three main groups based on CS: small (*M. macconnelli, V. thyone, V. bidens,* and *V. nymphaea*), medium (*P.* 

*brachycephalus, U. bilobatum,* and *C. villosum*) and large (*C. salvini, P. dorsalis, C. doriae, V. major,* and *P. infuscus*), see Supplementary Data SD5.

#### Phylomorphospace and phylogenetic signal

The three shape modules analyzed corresponding to the rostrum, including the palatine of the ventral view, exhibit significant phylogenetic signal ( $K_{mult} > 1, p < 0.05$ ). Contrary to the three shape modules of the neurocranium, which showed a significant absence of phylogenetic signal ( $K_{mult} < 1$ , p < 0.05), see Table 1. Additionally, the plots of the phylomorphospace of the six modules analyzed allowed us to visualize the major direction of landmark displacement and magnitude of shape changes (Fig. 3). For the modules of the dorsal view, the neurocranium in the PC1 explains 84.13% of variance related to an expansion of the mastoid extreme (M. macconnelli, V. bidens, and V. thyone) and its contraction (P. infuscus, P. dorsalis, and C. doriae). Similarly, the rostrum showed 56.76% of the variance explained in the PC1 related to the reduction (Chiroderma genus, P. infuscus, and P. dorsalis) and extension (S. hondurensis) of the maxilla. The rest of the configurations and views exhibited a comparable pattern. In the lateral view, the neurocranium showed a major deformation in the postoccipital region that, its enlargement (M. macconnelli, V. bidens, and V. thyone) and its decreasing (Chiroderma genus, P. infuscus, and P. dorsalis), explains the 62.65% of the variance in the PC1. In the rostrum, the PC1 explains 43.03% of the variance, associated with the constriction (S. hondurensis) and distension (P. infuscus and P. dorsalis) of positions of the M1, M2, and PM1. Finally, the neurocranium of the ventral view shows 73.73% of the variance in PC1 linked to its diminution (P. infuscus and C. doriae) and magnification (M. macconnelli, V. nymphaea, V.

*bidens*, and *V. thyone*). The palatine module shows a major deformation in the inferior border, showing an extension (genus *Chiroderma*) and a reduction (*S. hondurensis*) that explains the 53.64% variance in PC1.

### Phylogenetic analyses

The phylogenetic analysis of the combined morphological and molecular data with parsimony criteria resulted in a more parsimonious tree (Fig. 4) with a score of 1860.61351 that improved to 1880.60464 after applying a landmarks optimization (10x10 grid and nesting Sankoff 2 times). This topology suggests that the first diversification event within Vampyressina was the separation of Uroderma species from the rest of the genera, and the next divergence event included the genus Vampyriscus. Then, Chiroderma appears as the sister group to Vampyressa and Mesophylla, and these genera were sister to Vampyrodes and *Platyrrhinus* (Fig. 4). The jackknife resampling showed high values for a few internal nodes of genera (>85). However, the node of the early diversification of the subtribe, which tends to be different from the previously hypothesis, had low jackknife values (<50). Furthermore, both parsimony and Bayesian criteria analysis of the consensus sequences data matrix resulted in the same topology as the reference tree (see Supplementary Data SD6 and SD7). Nevertheless, the morphological based (linear, discrete and shape characters) tree with parsimony resulted in numerous paraphyletic groups as *Chiroderma*, *Vampyriscus*, and *Platyrrhinus* (see Supplementary Data SD8).

The phylogenetic information according to the indices CI, RI and *h* allow to interpret the changes in the landmark's displacements along the phylogeny as synapomorphy or homoplasy. Shape characters of rostrum exhibit the highest values of CI, especially in the lateral view and palatine, contrary to the characters of the neurocranium in the three views

(Table 2). Similarly, the rostrum of the lateral view and the palatine had the highest value of RI, while the neurocranium of the ventral view had the lowest RI. In addition, shape characters of the rostrum in the three views had the minimum values of h, whereas the neurocranium of the ventral and dorsal views had the maximum values. These results reveal that shape changes of the rostrum, mainly in the lateral view and palatine, are not homoplasious; contrary to the changes of modules of neurocranium, that based on the values of the indices can be considered as homoplasious.

For the Vampyressina subtribe, according to the spatial optimization of landmarks changes for the internal nodes in the reference tree, synapomorphies are mostly summarized in the frontal and nasal structures (frontonasal region) and the positions of PM1 in the lateral view of the rostrum (Fig. 5 and 6).

#### DISCUSSION

For decades, researchers have been trying to understand the astounding biodiversity of phyllostomid bats, and this has resulted in numerous studies from different approaches (Dumont 1999; Freeman 2000; Dumont 2004, 2007; Santana et al. 2012; Arbour et al. 2019; Giacomini et al. 2022). However, despite being one of the most studied group of mammals, some of its taxonomic relationships still remains unclear, as in the case of the subtribe Vampyressina, in which early diversification events are not completely understood (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018).

Phylogenetic and ecological patterns are clearer in high taxonomic levels, as differences among families and subfamilies because at that level their differences in diet habits (insectivory, herbivory, nectarivory, sanguivory, frugivory, omnivory, and carnivory) have had more time to affect their morphology, which could explain some of the main

dissimilarities and variation (Dumont 2004; Santana et al. 2010; Dumont et al. 2012; Hedrick et al. 2020; Giacomini et al. 2022). However, skull differences within the subfamily Stenodermatinae have also been reported due to these bats are known for consuming fruits of different levels of hardness (Dumont et al. 2012; Santana et al. 2012). Among Stenodermatinae, shape of the skull plays a key role in feeding because it may allow to increase or decrease bite force (soft and hard fruits), and different shapes have provided them a unique opportunity to explore new ecological niches of frugivory, which allowed them to diversify (Dummont et al. 2012). In this sense, geometric morphometrics tools could allow us to verify this hypothesis, but also to obtain shape synapomorphies for phylogenetic reconstruction of the subtribe Vampyressina or to evaluate ancestral changes from the shapes of the skulls (Catalano et al. 2010).

Our combined molecular and morphological parsimony analysis had two main differences from the molecular tree and other hypothesis previously reported (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018). Sister relationship between *Platyrrhinus* and *Vampyrodes* was maintained as earlier suggestions, as well as *Vampyressa* and *Mesophylla*. Our combined data showed that the first divergent event in the Vampyressina subtribe was the split of *Uroderma* from all other species, but this relationship still showed low support (Fig. 4). This hypothesis supports the tree reported by Rojas et al. 2016, but is different from the results of Tavares et al. 2018, who reported *Uroderma* as sister of *Vampyrodes* + *Platyrrhinus*. Then, our data showed the next divergent event of *Vampyriscus* from the rest of the species, not sister of *Chiroderma*, as previously reported (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018). Although when the molecular data are analyzed, the hypothesis of Rojas et al. 2016 is supported. On the other hand, in the optimization of the CS of the lateral view on

the pruned tree of Rojas et al. 2016 in the allometry analysis (see Supplementary data SD5), shows that *M. macconnelli* and *Vampyriscus* are the smallest, and *P. infuscus* and *V. major* the biggest, this suggest that the size is not affecting the separation of *Vampyriscus* of the earlier diversification event in the reference tree. In addition, the morphological based tree (see Supplementary data SD8) indicates that *V. major* is sister group of *Chiroderma*.

Early efforts have resulted in the validation of the monophyly of the subtribe Vampyressina, especially those that have presented a conflict between molecular and morphological evidence (Baker et al. 2003; Hoofer and Baker 2006; Hoofer et al. 2008; Gomes et al. 2016). However, internal nodes of the trees of Vampyressina are still showing low support. The relationships within Vampyresina have been difficult to resolve, and the natural history of phyllostomids, which includes a radiation driven by the adaptation to novel feeding habits and ecological opportunities (Hoofer and Baker 2006; Rossoni et al. 2017), may have been influencing this hard task to resolve their early evolution.

In this study, we applied two methods to estimate phylogenetic signal. First, as an exploratory analysis, using a statistical method, we obtained the  $K_{mult}$  values for the six shape characters and complemented with the *phylomorphospace* plots (Fig. 3 and Table 1), a technique that is based on minimize the sum of square distance on the branches to obtain the ancestral states using a tree as a reference, known as squared change parsimony (Maddison, 1991). Then, the phylogenetic method used to get the phylogenetic signal (reference tree in Fig. 4 and Table 2), was the spatial optimization, which select for each landmark in the ancestral position that minimizes the displacement of the coordinates that connect the ancestor and descendant for each node; this method is equivalent as true parsimony in cladistics (Catalano et al. 2010). This phylogenetic method allowed to obtain

the CI and RI indexes, that were higher for the rostrum modules of the three views, especially in the lateral view and palatine that showed the highest RI index (Table 2). These results and the phylogenetic signal test ( $K_{mult} > 1$ ), consistently reveal that modules of the rostrum have more phylogenetic information than the neurocranium.

Considering the natural history of Vampyressine bats, it is essential to explore the possible explanations of the variation of shape characters used here in an integral approach. Vampyressine bats primarily feed on hard fruits (Dumont 1999; Aguirre et al. 2003; da Silva et al. 2008; Porfirio and Bordignon 2015; Sánchez and Giannini 2018), so it is necessary to explore more on their ecological, behavioral or development aspects that may explain their morphological diversity beyond the variation in fruit hardness.

Additionally, frugivore bats have the largest olfactory bulbs compared to other bat species with different diets, which could have promoted evolutive rate shifts in Stenodermatinae (Hall *et al.* 2021). On the other hand, it seems that the available area of olfactory epithelium is related to the amount of expressed olfactory receptor genes (ORs), which are useful to recognize odorants in plants (Yohe et al. 2021). Within Vampyressina, *Uroderma, Chiroderma, Mesophylla,* and *Vampyressa* have more ORs, while *Vampyrodes* has the lowest number of intact ORs (Yohe et al. 2021). Additionally, some studies indicate that the nasal cavity allows more odorants to be inhaled within the olfactory region (Craven et al. 2010; Eiting et al. 2014b), but others suggest that nasal cavity morphology may be more influenced by breathing and feeding (Eiting et al. 2014a). Based on those investigations, the shape variation in the rostrum (Fig. 5 and 6) we detected could be linked to differences in the olfactory system in Vampyressina, so future works could specifically test if the amount

of shape changes we detected are linked to the amount of olfactory epithelium, cavity morphology size, ORs, or the way each species locate different plant species.

Another ecological source of variation related to the diversity of bats is different types of echolocations (Arbour et al. 2019; Giacomini et al. 2022). Firstly, the palatine has been related to feeding because bats with different habits have their own palates, especially in nectarivores, which are long and narrow (Dumont 1997, 2004, 2007; Freeman 1998). However, the palatine could indirectly participate in the nasal echolocation process because its border is connected to the larynx through the nasopharyngeal duct, where the echolocation call passes through (Smith et al. 2021; Giacomini et al. 2022). One of the components of the larynx, the cricoid, has high levels of mineralization in a few phyllostomid species (*Carollia perspicillata* and *Phyllostomus hastatus*), which also have the same nasal emission type as vampyressine bats (Carter 2020). Such mineralization could generate physical pressures and, in consequence, shape changes in the border of the palate, as we detected in our phylogenetic reconstruction (Fig. 6). Besides, a recent macroevolutionary study found that the phylogenetic signal of the shape of the palate is more related to type of emissions than feeding categories (Giacomini et al. 2022).

Other aspects that deserve more attention are the dental rows and musculature associated with the skull shape. Firstly, we detected shape changes in the dental rows in the three views (Fig. 6) that may be more related to feeding due to the natural history of stenodermatines. *Platyrrhinus*, the most diverse genus within Vampyressina, has changes located in landmarks of M2 that could be related to the displacement due to the presence of three upper molars that characterize *Platyrhinus* species (Fig. 5 and 6). Secondly, some authors argued that frugivores and nectarivores in Phyllostomidae use olfaction to detect
food, and bats can move their pinna and nose leaf to perform this function (Leiser-Miller and Santana 2020). More research about whether the movement of the nose leaf is related to the skull shape, where muscles are attached, seems promising.

Most comparative studies include high ecological categories in an attempt to find patterns that may link morphology evolution and ecology. These studies help to elucidate phylogenetic signals, *i. e.*, closer species are similar in their evaluated traits (Adams 2014). However, in some cases, when the variation of traits is too high, it becomes difficult to find more details in the evolution of characters in the lower taxonomic levels as species or genera. Similarly, this occurs when the skull shape of nectarivores or frugivores bats with an extreme cranial form (short-faced bats) are included in a multivariate analysis (Dumont et al. 2012; Arbour et al. 2019; Hedrick et al. 2020). Thus, the details of the variation in the skull shape of the rest of the sample with an average morphology cannot be easily perceived. Taking a close look at the phylogenetics of a highly diverse subtribe as Vampyressina, including skull shape data, we still found low support in early nodes that keep open the question of how the early diversification of the subtribe could have happened. Furthermore, anatomical, histological, and functional studies are still needed for many species, and comprehend the biology of many traits will help better understand their evolution and phylogenetic implications. Without a doubt, advances in research in these areas will provide invaluable information that will help to elucidate the evolution of many groups that remain understudied.

Here we identified the synapomorphies in skull shape changes of subtribe Vampyressina, that may be related to both feeding and nasal echolocation mode. Modules of the rostrum and palatine have more phylogenetic information on their variation than modules of

neurocranium; this should be considered in future phylogenetic reconstructions. We strongly recommend further phylogenetic reconstructions with a total evidence approach, and the inclusion of all recognized species of the subtribe to have a stronger hypothesis of the evolution of this highly diverse clade.

### ACKNOWLEDGMENTS

This paper is part of the requirements for obtainaing a Masters degree at the Posgrado en Ciencias Biológicas of the Univerisidad Nacional Autónoma de México (UNAM) in the Evolutionary biology specialization track, for SCLV. We thank to the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Teconologías (Conahcyt, CVU 959420) for their support for SCLV's masters courses and scholarship. We also thank to the American Museum of Natural History for the Theodore Roosevelt Memorial Fund. We especially thank to Nancy Simmons, James Patton, Efraín De Luna, and Alejandro Zaldívar for their guidelines, support and comments that consolidate this work. We are grateful to every curator of the following mammals' collections, for their help and attention: Museo de Zoología "Alfonso. L. Herrera" (Facultad de Ciencias, UNAM), the National Museum of Natural History, the American Museum of Natural History, the Colección Nacional de Mamíferos at the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), and the Museum of Vertebrate of Zoology (UC Berkeley).

## SUPPLEMENTARY DATA

**Supplementary Data SD1.** Description of morphological characters (based on Wetter et al. 2000).

**Supplementary Data SD2.** Anatomic description of landmarks and semilandmarks of each view of the skull.

**Supplementary Data SD3.** Eight inter-landmark distances were obtained from the landmark configurations of the ventral and dorsal views.

**Supplementary Data SD4. Results** of Analysis of Variance for estimate allometry in each view, using Residual Randomization.

Supplementary Data SD5. Optimization of CS on the pruned tree of Rojas et al., 2016.

**Supplementary Data SD6.** Bayesian analysis of consensus sequences of the four molecular markers (cytochrome-b / cytochrome oxidase I / Dloop / RAG2: n = 14).

**Supplementary Data SD7.** Maximum Parsimony analysis of consensus sequences of the four molecular markers (cytochrome-b / cytochrome oxidase I / Dloop / RAG2: n = 14).

**Supplementary Data SD8.** Phylogenetic tree obtained with parsimony criteria based on morphological characters.

## FIGURES AND TABLES



**Figure 1. Phylogenetic** reconstructions of the subtribe Vampyressina. Extract of A) Maximum-likelihood molecular tree of Rojas et al., 2016 and B) Bayesian molecular and morphological tree of Tavares, et a., 2018.



**Figure 2. Shape** characters based on landmark and semilandmark data of six modules obtained of the three views of the skull (dorsal, ventral and lateral views).



Figure 3. Phylomorphospaces and shape changes of four modules of the skull.



**Figure 4. Reference** tree obtained with the combined molecular and morphological data, with Parsimony criteria and >50 support values of jackniffe (1000 replicates).



**Figure 5. Landmark** optimization for each character for shape node (rostrum, lateral view), CI= 0.944629, RI= 0.813553.



Figure 6. Skull shape synapomorphies of vampyressines obtained from each evaluated module.

# TABLES

View	Configuration	K <sub>mult</sub>	p value	Effect size	
Dorsal	Neurocranium	0.9003	0.036	1.7086	
	Rostrum	1.2305	0.001	3.7798	
Ventral	Neurocranium	0.9712	0.01	2.3579	
	Palatine	1.275	0.001	3.9815	
Lateral	Neurocranium	0.8902	0.015	2.2785	
	Rostrum	1.1101	0.001	3.0594	

**Table 1. Results** of the phylogenetic signal test, using the  $K_{mult}$  for each of the sixgeometric morphometrics configurations. Based on 1000 random permutations.

View	Shape character	S	g	m	h	CI	RI
Dorsal	Neurocranium	2.604537	3.630294	2.079261	0.525276	0.798323	0.661338
	Rostrum	2.604263	3.265536	2.393406	0.210857	0.919034	0.758228
Ventral	Neurocranium	2.688776	3.936547	1.932105	0.756671	0.718582	0.622503
	Palatine	2.477119	3.316217	2.2419	0.235219	0.905043	0.781053
Lateral	Neurocranium	2.772237	3.857666	2.129317	0.64292	0.768086	0.628015
	Rostrum	2.666582	3.310855	2.51893	0.147652	0.944629	0.813553

Table 2. Values of phylogenetics indices of shape configurations used.

*s*: actual steps of a character on the combined tree; *g*: minimum steps on a bush; *m*: minimum steps for the character; h=s-m homoplasy index for a character; CI=m/sconsistency index; RI=g-s/g-m retention index.

#### APPENDICES

Appendix I. Specimens analyzed in morphological and molecular data.

### Specimens analyzed in morphological data

Uroderma bilobatum: Uroderma bilobatum convexum CNMA20401, México: Chiapas de las Américas, Mpio. Ocosingo, Ejido Benemérito; Uroderma bilobatum convexum CNMA20404, México: Chiapas de las Américas, Mpio. Ocosingo, Ejido Benemérito; Uroderma bilobatum convexum CNMA20405, México: Chiapas de las Américas, Mpio. Ocosingo, Ejido Benemérito; Uroderma bilobatum convexum CNMA20406, México: Chiapas de las Américas, Mpio. Ocosingo, Ejido Benemérito; Uroderma bilobatum convexum CNMA20399, México: Chiapas, 7 Km SE, del Km 133 de la carr. Palenque-Boca del acantum; Uroderma bilobatum convexum CNMA22269, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo José, Reserva de los Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA22270, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo José, Reserva de los Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA22271, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo José, Reserva de los Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA22273, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Estación Chajul de SUDUE, Reserva de Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA23733, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Estación Chajul de SUDUE, Reserva de Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA24455, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo José, Estación Chajul de SEDUE, Reserva de Montes Azules; Uroderma bilobatum convexum CNMA20400, México: Chiapas, Km 5 de la carretera Palenque-Ruinas; Uroderma bilobatum convexum CNMA5519, México: Chiapas, 10 Km SE Tonalá; Uroderma bilobatum convexum CNMA19227, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Ejidos La Gloria, Río Lagartos;

*Uroderma bilobatum convexum* CNMA19228, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Ejido La Gloria, Río Lagartos; *Uroderma bilobatum convexum* CNMA19229, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Ejido La Gloria, Río Lagartos.

Vampyriscus bidens: Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH408575, Venezuela T.F. Amazonas, San Juan; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH408576, Venezuela T.F. Amazonas, San Juan; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH408580, Venezuela T. F. Amazonas, Río Manapiare, San Juan; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH440370, Venezuela: Apure, La Chiricoa; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH361714, Brasil: Estación Belem A Ian; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH361720, Brasil: Para: Estación Belem A Ian; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH361721, Brasil: Para: Estación Belem A Ian; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH460112, Brasil: Para: Belem, Varzea; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH460113, Brasil: Para: Belem, Varzea; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH405074, Venezuela: T. F. Amazonas, Río Cunucuma, Belen; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH405059, Venezuela: T. F. Amazonas, Belen; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH582866, Perú: Cuzco, Provincia la Convención, Camisea Armihuari 545; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH588034, Perú: Cuzco, Provincia la Convención, Tangoshiari, 114600S, 0731933W 500 m; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH588036, Perú: Cuzco, Province Ridge Camp. 114646S, 0732026W 1000 m; Vampyriscus (Vampyressa) bidens NMNH588037, Perú: Cuzco, Province Ridge Camp. 114646S, 0732026W 1000 m;

*Vampyriscus nynmphaea: Vampyriscus nynmphaea* NMNH304903, Panamá:Cana/Zone: Barro Colorado Is.; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH305382, Panamá: Mandinga; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH305384, Panamá: Cerro Azul; *Vampyriscus nynmphaea*  NMNH309878, Panamá: Darien; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309879, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309880, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309881, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309882, Panamá: Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309883, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309883, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309885, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309885, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309887, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309887, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309890, Panamá: Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH309892, Panamá: Darien, Tacarcuna Village Camp; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH315556, Panamá: Almirante; *Vampyriscus nynmphaea* NMNH315557, Panamá: Almirante;

Platyrrhinus infuscus: Platyrrhinus infuscus AMNH248882, Bolivia: Pando, Río Nareuda,
68° 55W; Platyrrhinus infuscus AMNH246623, Bolivia: Dept. La Paz, Serranía Bellavista,
35 Km (by road) N, Caravani, 1650 m; Platyrrhinus infuscus AMNH246624, Bolivia:
Dept. La Paz, Serranía Bellavista, 35 Km (by road) N, Caravani, 1650 m; Platyrrhinus infuscus AMNH246621, Bolivia: La Paz, Río Coroico Valley; Platyrrhinus infuscus
AMNH67664, Ecuador: Palmera; Platyrrhinus infuscus AMNH67661, Ecuador: Palmera; Platyrrhinus infuscus AMNH67664, Ecuador: Palmera; Platyrrhinus infuscus AMNH67661, Ecuador: Palmera;
Platyrrhinus infuscus AMNH67912, Ecuador: San José; Platyrrhinus infuscus
AMNH71697, Ecuador: Boca Curaray; Platyrrhinus infuscus AMNH230641, Perú: Dept.
Junin, Prov. Tarma, 2 mi NW San Ramón, 2900'; Platyrrhinus infuscus
AMNH230648, Perú: Dept. Junin, Prov. Tarma, 2 mi NW San Ramón, 2900'; Platyrrhinus infuscus
AMNH230648, Perú: Dept. Junin, Prov. Tarma, 2 mi NW San Ramón, 2900'; Platyrrhinus infuscus

Platyrrhinus infuscus AMNH236131, Perú: Huánuco, Cerros del Sira (9°28'74° 46' W),
1120 m; Platyrrhinus infuscus AMNH67909, Ecuador: Oriente; Platyrrhinus infuscus
AMNH67929, Ecuador: Oriente; Platyrrhinus infuscus FMNH68450, Perú: Marcapata,
Cuzco, Huajyumbe; Platyrrhinus infuscus FMNH68453, Perú: Marcapata, Cuzco,
Huajyumbe; Platyrrhinus infuscus FMNH68447, Perú: Cuzco; Marcapata, Hda. Cadena.

*Platyrrhinus brachycephalus: Platyrrhinus brachycephallus* MVZ166591, Perú: Depto. Madre de Dios, Río Alto Madre de Dios, Hacienda Erika; *Platyrrhinus brachycephallus* MVZ166585, Perú: Depto. Madre de Dios, Río Alto Madre de Dios, Hacienda Erika; Platyrrhinus brachycephalus FMNH174745, Perú: Madre de Dios; Manu, Maskoitania, 13.4 Km NNW Atalaya, 480 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH174747, Perú: Madre de Dios; Manu, Maskoitania, 13.4 Km NNW Atalaya, 480 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH174755, Perú: Madre de Dios; Manu, Maskoitania, 13.4 Km NNW Atalaya, 480 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH98009, Perú: Loreto, Pucallpa Yarinacocha; Platyrrhinus brachycephalus FMNH64316, Perú: Loreto, Pucallpa; Platyrrhinus brachycephalus FMNH64317, Perú: Loreto, Pucallpa; Platyrrhinus brachycephalus FMNH139585, Perú: Madre de Dios; Manu, Río Palotoa, left blank, 12 K, 490 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH139584, Perú: Madre de Dios; Manu, Río Palotoa, left blank, 12 K, 490 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH13958, Perú: Madre de Dios; Manu, Río Palotoa, left blank, 12 K, 490 m; *Platyrrhinus brachycephalus* FMNH139587, Perú: Madre de Dios; Manu, Río Palotoa, left blank, 12 K, 490 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH170104, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH170105, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; Platyrrhinus brachycephalus FMNH170106,

Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Platyrrhinus brachycephalus* FMNH170109, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Platyrrhinus brachycephalus* FMNH19651, Perú: Loreto; Alto Amazona, Yurimaguas, 182 m.

Platyrrhinus dorsalis: Platyrrhinus dorsalis NMNH598163, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; *Platyrrhinus dorsalis* NMNH598164, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; Platyrrhinus dorsalis NMNH598165, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; Platyrrhinus dorsalis NMNH598166, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; Platyrrhinus dorsalis NMNH598167, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; Platyrrhinus dorsalis NMNH598169, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; Platyrrhinus dorsalis NMNH598566, Colombia: Valle del Cauca, 2 Km S Pance; Platyrrhinus dorsalis NMNH483577, Colombia: Valle del Cauca, Pichinde, 10 Km SW Cali; Platyrrhinus dorsalis NMNH483580, Colombia: Valle del Cauca, Pance, Aprox. 20 Km SW Cali; Platyrrhinus dorsalis NMNH483581, Colombia: Valle del Cauca, Pance, Aprox. 20 Km SW Cali; Platyrrhinus dorsalis AMNH269434, Colombia; Platyrrhinus dorsalis FMNH113538, Colombia: Cauca, Charguayaco, 6600; Platyrrhinus dorsalis FMNH113539, Colombia: Cauca, Charguayaco, 6600; Platyrrhinus dorsalis FMNH58740, Colombia: Huila; El parque de las Huilas, 150m N of upper cabaña; *Platyrrhinus dorsalis* MVZ173944, Perú: Depto. Cuzco, 3 Km E Amaybamba, 2200 m.

Vampyrodes major: Vampyrodes major CNMA20836, México: Chiapas, Mpio.Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque El Ocote; Vampyrodes major CNMA20837, México:

Chiapas, Mpio. Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque El Ocote; Vampyrodes major CNMA20838, México: Chiapas, Mpio. Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque El Ocote; Vampyrodes major CNMA20839, México: Chiapas, Mpio. Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque El Ocote; Vampyrodes major CNMA20840, México: Chiapas, Mpio. Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque El Ocote; Vampyrodes major CNMA19233, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo Hurauda; Vampyrodes major CNMA22258, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22837, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22832, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; Vampyrodes major CNMA22833, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; Vampyrodes major CNMA22259, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22257, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22261, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22836, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22952, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul; Vampyrodes major CNMA22953, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, SEDUE Reserva Montes Azules, Estación Chajul.

*Chiroderma villosum*: *Chiroderma villosum* FMNH170023, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH170025, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum*  FMNH170027, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH170028, Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas
Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH170032, Perú: Madre de Dios;
Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH170033,
Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH170033,
Perú: Madre de Dios; Manu, Quebrada Aguas Calientes, left ban, 450 m; *Chiroderma villosum* FMNH174653, Perú: Madre de Dios; Manu, Maskoitania, 13.4 Km NNW,
Atalaya, 480 m; *Chiroderma villosum* FMNH174651, Perú: Madre de Dios; Manu,
Maskoitania, 13.4 Km NNW, Atalaya, 480 m.

*Chiroderma doriae: Chiroderma doriae* TTU-M 95747 TK56717m, Paraguay: Depto San Pedro, Vaguarete Forest, 05 Km O HQ; *Chiroderma doriae* TTU-M 99569 TK64800m, Paraguay: d70. Cordillera: estancia "sombrero" 25°04.20'5 y 56° 36.13' w, 110 m; *Chiroderma doriae* TTU-M 75275 TK60544f, Paraguay: d70. Cordillera: estancia "sombrero" 25°04.20'5 y 56° 36.13' w, 110 m.

*Chiroderma salvini: Chiroderma salvini salvini* CNMA11409, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11408, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11412, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11413, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11414, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11415, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11415, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini* CNMA11398, México: Puebla: Hueytamalco; *Chiroderma salvini salvini c*NMA16186, México: Puebla: Hueytamalco, El Guayabal, Rancho Las Margaritas.

*Vampyressa thyone: Vampyressa thyone* CNMA22957, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Arroyo José, Estación Chajul de SEDUE, Reserva de Montes Azules; *Vampyressa thyone* 

CNMA24456, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Estación Chajul de SEDUE, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; *Vampyressa thyone* CNMA20841, México: Chiapas, Mpio. Ocozocoautla, R. El Cielito, Bosque el Ocete; *Vampyressa thyone* CNMA22265, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; *Vampyressa thyone* CNMA22266, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; *Vampyressa thyone* CNMA22267, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; *Vampyressa thyone* CNMA22956, México: Chiapas, Mpio. Ocosingo, Reserva de Montes Azules, Arroyo José; *Vampyressa thyone* CNMA39489, México: Oaxaca, Mpio. San Pedro Tututepec, 6 Km E "La Luz", 800 m; *Vampyressa thyone* CNMA39490, México: Oaxaca, Mpio. San Pedro Tututepec, 6 Km E "La Luz", 800 m.

Mesophylla macconnelli: Mesophylla macconnelli NMNH309978, Panamá:

Darien, Tacarcuna Campamento Vill; *Mesophylla macconnelli* NMNH331689, Panamá:
Chiriqui, San Vicente; *Mesophylla macconnelli* NMNH575553, Panamá: Bocas del Toro,
Nuri, 2 m; *Mesophylla macconnelli* NMNH483778, Colombia: Valle, Río Zabaletas,
29 Km SE Buenaventura; *Mesophylla macconnelli* NMNH483779, Colombia: Valle,
Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; *Mesophylla macconnelli* NMNH48378,

Colombia: Antoquia, Zaragoza, 25 Km S, 22 Km W AT La Tirana; *Mesophylla macconnelli* NMNH598773, Colombia: Valle del Cauca, Río Zabaletas, 29 Km SE Buenaventura; *Mesophylla macconnelli* NMNH548243, Ecuador: Pastasa, Mera; *Mesophylla macconnelli* NMNH361726, Brasil: Para: Belen, Utinga; *Mesophylla macconnelli* NMNH460132, Brasil: Para: Belen; *Mesophylla macconnelli* NMNH584493,

Bolivia: Santa Cruz: Provincia Velasco, Parque Nacional Kempff Mercado, Los Fierros, 143445 S, 605451 W, 230 m; *Mesophylla macconnelli* NMNH566547, Peru: Madre de Dios, Manu Pakitza; *Mesophylla macconnelli* NMNH387224, Venezuela: Bolivar, 85 Km S. S. E. El Dorado; Mesophylla macconnelli NMNH408817,

Venezuela: T. F. Amazonas, Tamatama, 135 m; *Mesophylla macconnelli* NMNH408823, Venezuela: T. F. Amazonas, Capibara; *Mesophylla macconnelli* NMNH408824, Venezuela: T. F. Amazonas, Capibara; *Mesophylla macconnelli* NMNH408839; *Mesophylla macconnelli* MVZ154868, Perú: Depto. Amazonas, headwaters of Río Kagka (of Río Cenepa). 2600 ft; *Mesophylla macconnelli* MVZ168872; Perú: Depto. Madre de Dios, Alergue; *Mesophylla macconnelli* MVZ139983; Perú: Depto. Amazonas, 12 road mi SSW Nazareth, 1100 ft.

Artibeus jamaicensis: Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC1138, México: Querétaro,
Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC1140, México:
Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC1142,
México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC1146, México: Querétaro, Mpio. Landa de Matamoros, 8 Km S Santa Inés, Río
Moctezuma; Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC1148, México: Querétaro, Mpio.
Landa de Matamoros, 8 Km S Santa Inés; Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC1151,
México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. de Jalpan, 8 Km N Jalpan; Artibeus jamaicensis yucatanicus
MZFC03642, México: Querétaro, Mpio. Landa de Matamoros, Tangojo, lat
21°9'50", long 99°6' 34"; Artibeus jamaicensis yucatanicus MZFC7241, México:
Querétaro, Mpio. Landa de Matamoros, Tangojo, lat 21°9'50", long 99°6' 34"; Artibeus

*jamaicensis yucatanicus* MZFC7242, México: Querétaro, Mpio. Landa de Matamoros, Tangojo, lat 21°9'50", long 99°6' 34"; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC9749,

México: Quintana Roo, Mpio. Solidaridad, Cd. Chemuyil, Cenote Xunaam-Ha; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC9750, México: Quintana Roo, Mpio. Solidaridad, Cd. Chemuyil, Cenote Xunaam-Ha; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC15190, México: Veracruz, Mpio. Zongolica, El Porvenir, Cueva de las Golondrinas; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC15191, México: Veracruz, Mpio. Zongolica, El Porvenir, Cueva de las Golondrinas; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC15191, México: Veracruz, Mpio. Zongolica, El Porvenir, Cueva de las Golondrinas; *Artibeus jamaicensis yucatanicus* MZFC15192, México: Veracruz, Mpio. Zongolica, El Porvenir, Cueva de las Golondrinas.

Sturnira hondurensis: Sturnira hondurensis MZFC01683, México: Guerrero, Mpio. Tlacotepec, Puerto del Gallo; Sturnira hondurensis MZFC1769, México: Guerrero, Mpio. Chilpancingo, 300 m SW Omiltemi; Sturnira hondurensis MZFC04102, México: Guerrero, Mpio. Ixcateopan de Cuahutemoc, 10 Km Nw Ixcateopan; Sturnira hondurensis MZFC6503, México: Guerrero, Omiltemi; Sturnira hondurensis MZFC9329, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC9472, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC9473, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC9474, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC9996, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC9999, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC10000, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC10001, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo; Sturnira hondurensis MZFC10938, México: Guerrero, Mpio. Leonardo Bravo, Carrizal de Bravo "El Molote"; Sturnira hondurensis MZFC1604,

México: Guerrero, Mpio. Chilpancingo, Omiltemi, Cañada Potrerillos; *Sturnira hondurensis* MZFC1614, México: Guerrero, Mpio. Atoyac, Nueva Delhi;

Genbank accession number of specimens analyzed in molecular data

*Chiroderma doriae:* AY169958.1; L28937.1; KM362056.1; JF448016.1; JF446373.1.

Chiroderma salvini: L28939.1; KM362058.1; JF446777.1.

*Chiroderma villosum:* FJ154121.1; FJ154319.1; FJ154253.1; L28943.1; DQ903842.1; JF454585.1; JF454584.1.

*Mesophylla macconnelli:* FJ154122.1, FJ154320.1, FJ154254.1; DQ312425.1; DQ312424.1; DQ312423.1; DQ312422.1; AF316462.1; KF569349.1; JF454947.1; JF454946.1; JF454945.1; JF454944.1; JF454943.1.

*Platyrrhinus brachycephallus:* FJ154132.1; FJ154330; FJ154264.1; FJ154131.1; FJ154329.1; FJ154263.1; FJ154130.1; FJ154328.1; FJ154262.1; JF447853.1; EF080578.1.

 Platyrrhinus dorsalis:
 FJ154139.1; FJ154337.1; FJ154271.1; FJ154138.1; FJ154336.1;

 FJ154270.1; FJ154137.1
 ; FJ154335.1; FJ154269.1; FJ154136.1; FJ154334.1;

 FJ154268.1; FJ154135.1; FJ154333.1; FJ154267.1.

*Platyrrhinus infuscus:* FJ154151.1; FJ154349.1; FJ154283.1; FJ154150.1; FJ154348.1; FJ154282.1; FJ154149.1; FJ154347.1; FJ154281.1; FJ154148.1; FJ154346.1; JF449066.1; JF449065.1; JF449062.1; JF449061.1.

*Uroderma bilobatum:* AY169955.1; AY169954.1; AY169953.1; AY169952.1; AY169951.1; JF499069.1; JF499068.1; JF499067.1;

*Vampyressa thyone:* MK409639.1; DQ312431.1; DQ312430.1; DQ312429.1; JN312368.1; JF449335.1; JF449332.1;

*Vampyriscus bidens:* FJ154181.1; FJ154379.1; FJ154313.1; AY157055.1; AY157045.1; AY157044.1; JF456128.1; JF456124.1; JF456123.1.

*Vampyriscus nymphaea:* DQ312418.1; DQ312417.1; DQ312416.1; DQ312415.1; KF569357.1; JF448146.1; JF446610.1; JF446608.1; JF447442.1.

Vampyrodes major: HQ637423.1; HQ637422.1; HQ637433.1; HQ637432.1.

Artibeus jamaicensis: DQ869483.1; DQ869478.1; JF447070.1; JF447071.1.

*Sturnira hondurensis:* KC753798.1; KC754263.1; KC754025.1; KC753797.1; KC754262.1; KC754024.1; KC753796.1; KC754261.1; KC754023.1; KC753795.1; KC754260.1; KC754022.1; KC753794.1; KC754259.1; KC754021.1; KC753793.1; KC754258.1; KC754020.1.

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES**

A pesar de ser uno de los linajes de mamíferos más estudiados, aún falta por esclarecer algunas de las relaciones taxonómicas de los murciélagos filostómidos; ya que las reconstrucciones filogenéticas con caracteres morfológicos, moleculares y combinadas a nivel de familia, continúan mostrando algunas incongruencias entre las diferentes hipótesis resultantes (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018). Este es el caso de la subtribu Vampyressina (Phyllostomidae: Stenodermatinae), cuyas propuestas filogenéticas más recientes han mostrado diferencias y bajos soportes en los nodos más profundos de diversificación de la subtribu. Esto es relevante porque los procesos que dieron origen a la subtribu aún no se pueden esclarecer ante la incertidumbre en la reconstrucción filogenética y su resolución puede ayudar a dilucidar y comprender los patrones evolutivos de estos murciélagos tan diversos.

Para comprender los componentes evolutivos que dieron origen a la diversidad morfológica de los murciélagos filostómidos, las líneas de investigación se han enfocado en el estudio a detalle en los aspectos de desarrollo, funcionalidad y ecología del cráneo (Sears 2013). Asimismo, el enfoque ecomorfológico centrado en los hábitos alimenticios de los filostómidos se ha implementado ampliamente e incluso, podría ser la línea de investigación más estudiada (Freeman 2000; Aguirre et al. 2003; Dumont 2004, 2007; Ratcliffe 2009; Santana et al. 2010; Dumont et al. 2012; Santana et al. 2012; Clavel y Morlon 2020; Hedrick et al. 2020; Leiser-Miller y Santana 2020; Hall et al. 2021). De igual manera, se ha sugerido que la diversidad craneal de los murciélagos filostómidos es el resultado de una notoria fuerza de selección natural en el nodo basal de la familia y sus hábitos alimenticios (Santana et al. 2012; Rossoni et al. 2017). Con más detalle, Dumont et al. (2012) encontraron que dentro de la subfamilia Stenodermatinae, la tasa de diversificación aumentó con la frugivoría. Esta subfamilia es conocida por consumir frutos de diferentes niveles de dureza,

y, también sugirieron que la forma del cráneo de estos murciélagos brindó una oportunidad única para explorar un nuevo nicho ecológico de frugivoría que permitió la diversificación en la base de las especies de la subfamilia Stenodermatinae. La forma del cráneo juega un papel clave en la alimentación porque puede permitir aumentar o disminuir la fuerza de mordida (Dumont et al. 2005; Slater y Van Valkenburgh 2009), por lo que las diferencias en frugivoría (frutos blandos y duros) como se ve en los murciélagos estenodermatinos, pueden explicar las diferencias en las formas del cráneo (Dumont et al. 2012; Santana et al. 2012). Sin embargo, los patrones filogenéticos y la estructura de la dieta son más claros en los grupos de alto nivel, como familia y subfamilia (es decir, a nivel macroevolutivo); debido a las diferencias en los hábitos alimentarios, como la insectívora, la herbivoría, la nectarívora, la sanguivoría, la frugivoría, la omnívora y la carnívora, lo que explica las principales diferencias y variaciones (Dumont 2004; Santana et al. 2010; Dumont et al. 2012; Hedrick et al. 2020; Giacomini et al. 2021).

Como consecuencia de la fuerte relación entre la morfología craneal y la diversificación de los filostómidos, la forma del cráneo podría contener importante información filogenética. En un contexto filogenético, las herramientas de morfometría geométrica nos permiten evaluar cambios en nodos ancestrales en una optimización espacial equivalente al análisis de parsimonia (Catalano et al. 2010), y con este enfoque, podríamos obtener sinapomorfias de forma de una reconstrucción filogenética de la subtribu Vampyressina. Nuestro análisis filogenético, molecular y morfológico combinado, obtenido con el criterio de parsimonia tiene dos diferencias principales con las hipótesis previas publicadas (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018). El primer evento de divergencia de la subtribu Vampyressina fue la separación del género *Uroderma* del resto de las especies (Rojas et al. 2016), sin embargo, este nodo aún muestra bajo soporte (Fig. 4). Después de la divergencia de *Uroderma*, el género *Vampyriscus* se separa del resto de las especies, y no se muestra como el grupo

hermano de *Chiroderma* como se informó anteriormente (Rojas et al. 2016; Tavares et al. 2018). La relación entre *Platyrrhinus* y *Vampyrodes* se mantuvo como lo sugirieron anteriormente, así como *Vampyressa* y *Mesophylla*. Además, los índices CI y RI fueron mayores para los módulos de rostro de las tres vistas, específicamente la vista lateral mostró el índice CI y RI más alto. Estos resultados en conjunto con la prueba de señal filogenética (K<sub>mult</sub>), revelan consistentemente que los módulos del rostro tienen más información filogenética que el neurocráneo. Teniendo en cuenta las principales características ecomorfológicas de las especies estenodermatinas, y que todos los murciélagos vampiresinos se alimentan principalmente de frutos duros (Dumont 1999; Aguirre et al. 2003; da Silva et al. 2008; Porfirio y Bordignon 2015; Sánchez y Giannini 2018), se vuelve necesario explorar más sobre sus aspectos ecológicos, conductuales o de desarrollo que pueden explicar su diversidad más allá de la variación en la dureza del alimento.

En adición, con apoyo de las esquematizaciones de las sinapomorfías, fue posible observar que, en la región del fronto-nasal (vista lateral del cráneo), es donde se concentran las sinapomorfías más altas. De acuerdo a esta información, se procedió a investigar en la literatura ya publicada los procesos anatómicos y evolutivos de esta región anatómica de estos murciélagos. Recientemente, se han explorado los sistemas sensoriales relacionados con el olfato y la visión de murciélagos frugívoros, bajo enfoques histológicos, anatómicos, moleculares y comparativos (Yohe et al. 2018, 2021a; b; Leiser-Miller y Santana 2020; Hall et al. 2021; Smith et al. 2021). Con base en el marcador molecular *Trpc2*, que es el regulador de la funcionalidad vomeronasal, Yohe *y* colaboradores (2017) argumentaron que los filostómidos y minioptéridos pasaron por una fuerte selección purificadora que mantuvo un órgano vomeronasal funcional, su estudio incluye especies de vampiresinas e indican un órgano vomeronasal funcional en algunas especies de los géneros *Chiroderma*,

Mesophylla, Vampyrodes y Platyrrhinus. Además, un enfoque molecular y morfológico encontró que un gen Trpc2 bien conservado está relacionado con la presencia del bulbo olfatorio accesorio, incluso cuando no están directamente relacionados durante el desarrollo (Yohe et al., 2018). De igual manera, en este estudio se incluyeron especies vampiresinas y su modelo predice un bulbo olfativo accesorio en algunas especies de los géneros Chiroderma y Vampyrodes (Yohe et al., 2018). Adicionalmente, otro estudio con enfoque molecular y morfológico, Yohe et al., 2021a compararon genes de receptores olfativos (OR) de transcriptomas de la superficie del epitelio olfativo de murciélagos con diferentes dietas, y encontraron que los murciélagos visitantes de plantas tienen más área de la superficie del epitelio olfativo y, al mismo tiempo, también tienen tasas evolutivas bajas de los genes OR. Los autores sugirieron que una selección relajada de genes OR permitió mantener su diversidad, que participan en el reconocimiento de más olores en murciélagos que visitan plantas, y también que un área más grande de la superficie del epitelio olfativo puede permitir más expresiones de los genes OR. Asimismo, su estudio también incluyó algunas especies vampiresinas e informa que las especies de los géneros Uroderma, Chiroderma, Mesophylla y Vampyressa tienen un mayor número de OR intactos, mientras que Vampyrodes tiene el número más bajo de OR intactos de las especies de la subtribu incluidas (Yohe et al. 2021a). Estos resultados también podrían sugerir una variación en la forma del sistema olfativo de las especies de Vampyressina, especialmente una vez que se estableció el vínculo entre los OR y la morfología del epitelio olfativo en los murciélagos que visitan plantas (Yohe et al. 2021a). Si el sistema olfativo de estos murciélagos frugívoros está bajo la presión de la selección natural, estos órganos pueden tener variaciones y posiblemente participar en los cambios de forma del cráneo. Además, Hall et al. (2021) encontraron que los murciélagos frugívoros tienen los bulbos olfativos más grandes en comparación con otros hábitos alimenticios; sus resultados también sugieren varios cambios posibles en la tasa de evolución del tamaño de la órbita en los orígenes de la

subfamilia Stenodermatinae y dentro de los filostómidos. En conjunto, estos hallazgos en murciélagos frugívoros también podrían estar relacionados con los sistemas sensoriales que utilizan los murciélagos vampiresinos para encontrar frutos, de ser así, podría explicar las sinapomorfias de la forma obtenida en la vista dorsal y lateral del rostro específicamente en el la región frontal-nasal, donde se ubica la región olfatoria, incluido el bulbo olfatorio, pero es necesario realizar más investigaciones anatómicas que incluyan especies de la subtribu para explorar más esta hipótesis a detalle.

Por otra parte, además de la dieta, otro enfoque ecológico que los investigadores han estado explorando recientemente es el efecto de diferentes tipos de ecolocalización en la diversidad de murciélagos (Arbour et al. 2019; Giacomini et al. 2021). Los murciélagos frugívoros, al igual que las especies vampiresinas, usan tanto el olfato como la vista para encontrar los frutos y los llamados de ecolocación con frecuencia para forrajear en ambientes saturados (Marciente et al. 2015; Arbor et al. 2019), aspectos que se agrupan en el proceso de alimentación. Dado que los estudios ecomorfológicos muestran que la ecolocalización y la dieta juegan papeles principales en la forma del cráneo de los murciélagos, el caso de los vampiresinos y los resultados de los cambios de forma en nuestro estudio pueden no ser la excepción. Ambos procesos podrían explicar nuestros resultados, pero es probable que los cambios de forma del rostro (vista dorsal y lateral), estén más asociados con el olfato porque la cavidad nasal de esa zona está más especializada en esa función. Sin embargo, los resultados de los estudios del conducto nasofaríngeo y el flujo de aire en esta área (Eiting et al. 2014b; Smith et al. 2021) pueden sugerir que los cambios de forma del paladar también podrían estar relacionados con la función de emisión nasal.

Al observar de cerca la filogenia de una subtribu muy diversa como Vampyressina, incluidos los datos de la forma del cráneo, aún encontramos poco soporte en los primeros nodos que

mantienen abierta la pregunta de cómo podría haber ocurrido la diversificación temprana de la subtribu. De igual manera, todavía son necesarios estudios anatómicos, histológicos y funcionales para muchas especies, y la comprensión de la biología de muchos rasgos ayudará a comprender mejor su evolución y sus implicaciones filogenéticas. Sin duda, los avances en la investigación en estas áreas aportarán información invaluable que ayudará a dilucidar la evolución de muchos grupos que aún permanecen poco estudiados.

Los estudios macroevolutivos entre familias de murciélagos que utilizan métodos comparativos filogenéticos han ayudado a encontrar características que pueden aportar información de gran valor sobre la historia evolutiva de estos mamíferos. Sin embargo, para comprender y tener una hipótesis confiable de su evolución, aún necesitamos reconstrucciones filogenéticas más fuertes. Parece claro que, los rasgos ecológicos relacionados con los sistemas sensoriales y funcionales de tipo alimentación y ecolocación, tienen un papel clave en la diversidad de murciélagos filostómidos. Aquí identificamos las sinapomorfias en los cambios de forma del cráneo de la subtribu Vampyressina, que pueden estar relacionadas tanto con la alimentación, como con el tipo de ecolocación nasal. Los módulos del rostro y el palatino, específicamente la región del fronto-nasal, aportan más información filogenética en su variación que los módulos del neurocráneo; esto debe tenerse en cuenta en futuras reconstrucciones filogenéticas. Además de que coincide con la ecología y anatomía previamente estudiadas de este grupo, donde la frugivoría y los sistemas sensoriales como el olfato, han jugado un papel importante en su historia evolutiva.

Finalmente, contar con información más clara de las características anatómicas y fisiológicas puede ayudar a dilucidar los eventos evolutivos de los murciélagos vampiresinos. Recomendamos vigorosamente más reconstrucciones filogenéticas con un enfoque de evidencia total, así como con la inclusión de todas las especies reconocidas de

la subtribu para tener una hipótesis más sólida de la evolución de este clado altamente diverso.

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2013. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy 24: 7–14.
- Adams D.C. 2014. A generalized K statistic for estimating phylogenetic signal from shape and other high-dimensional multivariate data. Systematic Biology 63:685–697.
- Adams D.C. 2016. Evaluating modularity in morphometric data: Challenges with the RV coefficient and a new test measure. Methods in Ecology and Evolution 7:565–572.
- Adams D., Collyer M., Kaliontzopoulou A., Baken E. 2022. geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 4.0.4. https://cran.rproject.org/package=geomorph
- Aguirre A.L.F., Herrel A., Van Damme R., Matthysen E. 2003. The Implications of Food Hardness for Diet in Bats. Functional Ecology 17:201–212.
- Arbour J. H., Curtis A. A., Santana S. E. 2019. Signatures of echolocation and dietary ecology in the adaptive evolution of skull shape in bats. Nature Communications 10.

- Baken E., Collyer M., Kaliontzopoulou A., Adams D. 2021. geomorph v4.0 and gmShiny: enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience. Methods in Ecology and EvolutionVolume 12: 2355-2363.
- Baker R.J., Taddei V.A., Hudgeons J.L., Van Den Bussche, R.A. 1994. Systematic
  Relationships Within *Chiroderma* (Chiroptera: Phyllostomidae) Based on
  Cytochrome b Sequence Variation. Journal of Mammalogy 75: 321–327.
- Baker R. J., Hoofer S. R., Porter C. A., Van Den Bussche R. A. 2003.
  Diversification among New World leaf-nosed bats: an evolutionary hypothesis and classification inferred from digenomic congruence of DNA sequence.
  Occasional papers / Museum of Texas Tech University 230:1–32.
- Baker R.J., Solari S., Cirranello A., Simmons N.B. 2016. Higher LevelClassification of Phyllostomid Bats with a Summary of DNA Synapomorphies.Acta Chiropterologica 18:1–38.
- Blomberg S.P., Garland T.Jr., Ives A.R. 2003. Testing for Phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. Evolution 57:717–745.
- Botero-Castro F., Tilak M., Justy F., Catzeflis F., Delsuc F., Douzery E.J.P. 2013.
  Next-generation sequencing and phylogenetic signal of completemitochondrial genomes for resolving the evolutionary historyof leaf-nosed bats (Phyllostomidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 69: 728–739.
- Camacho M.A., Cadar D., Horváth B., Merino-Viteri A., Murienne J. 2022. Revised phylogeny from complete mitochondrial genomes of phyllostomid bats

resolves subfamilial classification. Zoological Journal of the Linnean Society. 196: 1591–1607.

- Carter R.T. 2020. Reinforcement of the larynx and trachea in echolocating and non-echolocating bats. Journal of Anatomy 237:495–503.
- Catalano S.A., Goloboff P.A., Giannini N.P. 2010. Phylogenetic morphometrics (I): The use of landmark data in a phylogenetic framework. Cladistics 26:539–549.
- Cirranello A., Simmons N.B, Solari S., Baker R.J. 2016. Morphological diagnoses of higher-level phyllosto-mid taxa (Chiroptera: Phyllostomidae). Acta Chiropterologica, 18: 39–71
- Clavel J., Morlon H. 2020. Reliable Phylogenetic Regressions for Multivariate Comparative Data: Illustration with the MANOVA and Application to the Effect of Diet on Mandible Morphology in Phyllostomid Bats. Systematic Biology 69:927–943.
- Collyer M. L., Adams D.C. 2013. Phenotypic trajectory analysis: comparison of shape change patterns in evolution and ecology. Hystrix 24:75-83.
- Collyer M.L., Adams D.C. 2018. RRPP: An R package for fitting linear models to high-dimensional data using residual randomization. Methods in Ecology and Evolution 9:1772–1779.
- Collyer M. L., Adams D.C. 2021. RRPP: Linear Model Evaluation with Randomized Residuals in a Permutation Procedure, R package version 1.1.2." https://cran.r-project.org/package=RRPP.

- Craven B.A., Paterson E.G., Settles G.S. 2010. The fluid dynamics of canine olfaction: Unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. Journal of the Royal Society Interface 7:933–943.
- Cuadrado-Ríos S., Mantilla-Meluk H. 2016. Timing the evolutionary history of tentmaking bats, genus *Uroderma* (Phyllostomidae): A biogeographic context. Mammalian Biology. 81: 579-586.
- Dumont E.R., Piccirillo J., Grosse L.R. 2005. Finite-element analysis of biting behavior and bone stress in the facial skeletons of bats. Anatomical Record Part A-Discoveries in Molecular Cellular and Evolutionary Biology, 283A, 319– 330.
- Dávalos L.M., Cirranello A.L., Geisler J.H., Simmons N. B. 2012. Understanding phylogenetic incongruence: Lessons from phyllostomid bats. Biological Reviews Cambridge Philosophical Society 87:991-1024.
- De Luna E. 2020. Integrando análisis morfométricos y filogenéticos: de la sistemática fenética a la morfometría filogenética. Acta Botanica Mexicana 127: e1640.
- Dumont E. R. 1997. Cranial shape in fruit, nectar, and exudate feeders: Implications for interpreting the fossil record. American Journal of Physical Anthropology 102:187–202.
- Dumont E. R. 1999. The effect of food hardness on feeding behaviour in frugivorous bats (Phyllostomidae): An experimental study. Journal of Zoology 248:219–229.

- Dumont E. R. 2004. Patterns of diversity in cranial shape among plant-visiting bats. Acta Chiropterologica 6:59–74.
- Dumont E. R. 2007. Feeding Mechanisms in Bats: Variation within the Constraints of Flight. Integrative and Comparative Biology 47:137–146.
- Dumont E.R., Dávalos L.M., Goldberg A., Santana S.E., Rex K., Voigt C.C. 2012. Morphological innovation, diversification and invasion of a new adaptive zone. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 279:1797–1805.
- Dumont E.R., Samadevam K., Grosse I., Warsi O.M., Baird B., Davalos L.M. 2014. Selection for mechanical advantage underlies multiple cranial optima in New World leaf-nosed bats. Evolution 68:1436–1449
- Eiting T.P., Blair Perot J., Dumont E.R. 2014a. How much does nasal cavity morphology matter? Patterns and rates of olfactory airflow in phyllostomid bats. Proceedings of the Royal Society B 282: 20142161.
- Eiting T.P., Smith T.D., Perot J.B., Dumont E.R. 2014b. The role of the olfactory recess in olfactory airflow. Journal of Experimental Biology 217:1799–1803.
- Freeman P.W. 1998. Form, function, and evolution in skulls and teeth of bats. Papers in Natural Resources 9.
- Freeman P. W. 2000. Macroevolution in Microchiroptera: Recoupling morphology and ecology with phylogeny. Evolutionary Ecology Research 2:317–335.
- Galimberti A., Sandionigi A., Bruno A., Bellati A., Casiraghi M. 2015. DNA barcoding in mammals: what's new and where next? Hystrix, the Italian

Journal of Mammalogy 26: 13–24.

- Giacomini G., Herrel A., Chaverri G., Brown R.P., Russo D., Scaravelli D., Meloro
  C. 2021. Functional correlates of skull shape in Chiroptera: feeding and
  echolocation adaptations. Integrative Zoology 17:430-442.
- Goloboff P.A., Farris J., Nixon K. 2016. TNT: with a full implementation of phylogenetic morphometrics. Cladistics 32:221–238.
- Gomes A.J.B., Nagamachi C.Y., Rodrigues L.R.R., Benathar T.C.M., Ribas T.F.A., O'Brien P.C.M., Yang F., Ferguson-Smith, M.A., Pieczarka J.C. 2016. Chromosomal phylogeny of Vampyressine bats (Chiroptera, Phyllostomidae) with description of two new sex chromosome systems. BMC Evolutionary Biology 16:1–11.
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. 2010. Sea view version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. Molecular Biology and Evolution 27:221–224.
- Gunz P., Mitteroecker P. 2013. Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces. Hystrix, the Italian journal of mammalogy 24:103-109.
- Hall R.P., Mutumi G.L., Hedrick B.P., Yohe L.R.Y., Sadier A., Davies K.T.J.,
  Rossiter S.J., Sears K., Dávalos L.M., Dumont E.R. 2021. Find the food first:
  An omnivorous sensory morphotype predates biomechanical specialization for
  plant based diets in phyllostomid bats. Evolution 75:2791–2801.
- Hedrick B. P., Mutumi G.L., Munteanu V.D., Sadier A., Davies K.T.J., Rossiter S.J., Dávalos L.M., Dumont E. 2020. Morphological Diversification under High

Integration in a Hyper Diverse Mammal Clade. Journal of Mammalian Evolution 27:563–575.

- Hoofer S. R., Baker R. J. 2006. Molecular systematics of Vampyressine bats (Phyllostomidae: Stenodermatinae) with comparison of direct and indirect surveys of mitochondrial DNA variation. Molecular Phylogenetics and Evolution 39:424–438.
- Hoofer S. R., Flanary W.E., Bull R.J., Baker R. J. 2008. Phylogenetic relationships of vampyressine bats and allies (Phyllostomidae: Stenodermatinae) based on DNA sequences of a nuclear intron (TSHB-I2). Molecular Phylogenetics and Evolution 47:870–876.
- Klingenberg C.P. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. Development Genes and Evolution 226: 113–137.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution 35:1547–1549.
- Kunz T.H., Anthony E.L.P. 1982. Age Estimation and Post-Natal Growth in the Bat Myotis lucifugus. Journal of Mammalogy 63:23–32.
- Lanfear R., Frandsen P.B., Wright A.M., Senfeld T., Calcott B. 2017. Partitionfinder
  2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. Molecular Biology and Evolution
  34:772–773.

Leiser-Miller L.B., Santana S.E. 2020. Morphological diversity in the sensory
system of phyllostomid bats: Implications for acoustic and dietary ecology. Functional Ecology 34:1416–1427.

- Lim B.K. 1993. Cladistic reappraisal of Neotropical Stenodermatinae bat phylogeny. Cladistics 9:147–165.
- Maddison W.P. 1991. Squared-Change Parsimony Reconstructions of Ancestral States for Continuous-Valued Characters on a Phylogenetic Tree. Systematic Zoology 40:304-314.
- Marciente R., Bobrowiec P.E.D., Magnusson W. E. 2015. Ground-vegetation clutter affects phyllostomid bat assemblage structure in lowland Amazonian forest. PLoS ONE 10:1–16.
- Marroig, G., Shirai L.T., Porto A., De Oliveira F. B., De Conto V. 2009. The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull II: Evolutionary Consequences. Evolutionary Biology 36:136–148.
- Monteiro L.R., Nogueira M.R. 2011. Evolutionary patterns and processes in the radiation of phyllostomid bats. BMC Evolutionary Biology 11:137.
- Ospina-Garcés S.M., León-Paniagua L. 2022. The influence of geography in the cranial diversification of the bulldog bats of the genus Noctilio (Noctilionidae: Chiroptera). Organisms Diversity & Evolution 22:1-23.
- Owen R.D. 1987. Phylogenetic Analyses of the Bat Subfamily Stenodermatinae (Mammalia: Chiroptera). Special Publications The Museum Texas Tech University 26.

- Palci A., Lee M.S.Y. 2019. Geometric morphometrics, homology and cladistics: review and recommendations. Cladistics 35: 230–242.
- Padial J.M., Mirralles A., De La Riva I., Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy 7: 16.
- Porfirio G., Bordignon O.M. 2015. Phyllostomid bats and their diets at Urucum Massif, Mato Grosso do Sul, Brazil. Chiroptera Neotropical 21:1332–1337.
- Porto A., De Oliveira F.B., Shirai L. T., De Conto V. 2009. The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull I: Morphological Integration Patterns and Magnitudes. Evolutionary Biology 36:118–135.
- Porter C.A., Baker R.J. 2004. Systematics of Vampyressa and related genera of Phyllostomid bats as determined by Citochrome-b sequences. Journal of Mammalogy 85:126–132.
- Rambaut A., Drummond A.J., Xie D., Baele G., Suchard M.A. 2018. Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. Systematic Biology 67:901-904.
- Ratcliffe J.M. 2009. Neuroecology and diet selection in phyllostomid bats. Behavioural Processes 80:247–251.
- Redondo R.A.F., Brina L.P.S., Silva R.F., Ditchfield A.D., Santos F.R. 2008.
   Molecular systematics of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae).
   Molecular Phylogenetics and Evolution 49(1): 44-58.

Rohlf F.J., Marcus L.F. 1993. A Revolution in Morphometrics. Trends in Ecology &

Evolution 8(4):129-32.

- Rohlf J. F. 2017. tpsDig2 version 2.31. Evology & Evolution and Anthropology, Stony Brook University.
- Rohlf J. F. 2019. tps Utility program version 1.78. Evology & Evolution and Anthropology, Stony Brook University.
- Rojas D., Vale A., Ferrero V., Navarro L. 2012. The role of frugivory in the diversification of bats in the Neotropics. Journal of Biogeography 39:1948-1960.
- Rojas D., Warsi O.M., Dávalos L.M. 2016. Bats (Chiroptera: Noctilionoidea) challenge a recent origin of extant neotropical diversity. Systematic Biology 65:432–448.
- Ronquist F., Teslenko M., Van Der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Höhna S., Bret Larget, Liu L., Suchard M.S., Huelsenbeck J.P. 2012. Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology 61:539–542.
- Rossoni D.M., Assis A.P.A., Giannini N.P., Marroig G. 2017. Intense natural selection preceded the invasion of new adaptive zones during the radiation of New World leaf-nosed bats. Scientific Reports 7:1–11.
- Rossoni D.M., Costa B.M.A., Giannini N.P., Marroig G. 2019. A multiple peak adaptive landscape based on feeding strategies and roosting ecology shaped the evolution of cranial covariance structure and morphological differentiation in phyllostomid bats. Evolution 73:961–981.

- Sánchez M.S., Giannini N.P. 2018. Trophic structure of frugivorous bats in the Neotropics: emergent patterns in evolutionary history. Mammal Review 48:90–107.
- Sandría J., and De Luna, E. 2016. LMs4TNT, Java tool to convert xy coordinates to a TNT data block. jt4tnt v1.0. http://www.filogenetica.org/Java\_tool/lms4tnt.htm
- Santana S.E., Dumont E.R., Davis J.L. 2010. Mechanics of bite force production and its relationship to diet in bats. Functional Ecology 24:776–784.
- Santana S.E., Grosse I.R., Dumont E.R. 2012. Dietary hardness, loading behavior, and the evolution of skull form in bats. Evolution 66:2587–2598.
- da Silva A. G., Gaona O., Medellín R.A. 2008. Diet and Trophic Structure in a Community of Fruit-Eating Bats in Lacandon Forest, México. Journal of Mammalogy 89:43–49.
- Sears K.E. 2013. Differences in Growth Generate the Diverse Palate Shapes of New World Leaf-Nosed Bats (Order Chiroptera, Family Phyllostomidae). Evolutionary Biology 41:12–21.
- Simmons N.B. (2005). Order chiroptera. In Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference (eds D. E. Wilson and D. M. Reeder), pp. 313–529. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Slater, G.J., Van Valkenburgh, B. 2009. Allometry and performance: the evolution of skull form and function in felids. Journal of Evolutionary Biology, 22, 2278–2287.

- Smith T.D., DeLeon V.B., Eiting T.P, Corbin H.M., Bhatnagar K.P, Santana S.E. 2021. Venous networks in the upper airways of bats: A histological and diceCT study. Anatomical Record 305:1871-1891.
- Solari S., Sotero-Caio C.G., Baker R.J. 2019. Advances in systematics of bats: towards a consensus on species delimitation and classifications through integrative taxonomy. Journal of Mammalogy 100(3):838–851
- Solis-Zurita C., De Luna E., González D. 2019. Phylogenetic relationships in the Sceloporus variabilis (Squamata: Phrynosomatidae) complex based on three molecular markers, continuous characters and geometric morphometric data. Zoologica Scripta 48:419–439.
- Sorensen D.W., Butkus C., Cooper L.N., Cretekos C.J., Rasweiler J.J., Sears K.E. 2014. Palate Variation and Evolution in New World Leaf-Nosed and Old World Fruit Bats (Order Chiroptera). Evolutionary Biology 41:595–605.
- Tavares V.DaC., Gardner A.L., Ramírez-Chaves H.E., Velazco P.M. 2014.
  Systematics of Vampyressa melissa Thomas, 1926 (Chiroptera: Phyllostomidae), with Descriptions of Two New Species of Vampyressa.
  American Museum Novitates 2014(3813): 1-27.
- Tavares V.daC., Warsi O.M., Balseiro F., Mancina C.A., Dávalos L.M. 2018. Out of the Antilles: Fossil phylogenies support reverse colonization of bats to South America. Journal of Biogeography 45:859–873.
- Upham N., Esselstyn J.A., Jetz W. 2019. Inferring the mammal tree: Species-level sets of phylogenies for questions in ecology, evolution, and conservation.

68

PLoS Biology 17: e3000494.

- Velazco P.M., Patterson B.D. 2008. Phylogenetics and biogeography of the broadnosed bats, genus *Platyrrhinus* (Chiroptera: Phyllostomidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 49(3): 749-759.
- Velazco P.M., Lim B.K. 2014. A new species of broad-nosed bat Platyrrhinus Saussure, 1860 (Chiroptera: Phyllostomidae) from the Guianan Shield. Zootaxa 3796:175–193.
- Villalobos F., Valerio A.A. 2002. The phylogenetic relationships of the bat genus *Sturnira* Gray, 1842 (Chiroptera: Phyllostomidae). Mammalian Biology 67(5): 268-275.
- Wetterer A., Rockman M., Simmons N. 2000. Phylogeny of phyllostomid bats (Mammalia : Chiroptera): Data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. Bulletin of the American Museum of Natural History:4–200.
- Yohe L.R., Abubakar R., Giordano C., Dumont E., Sears K.E., Rossiter S.J., Dávalos L.M. 2017. Trpc2 pseudogenization dynamics in bats reveal ancestral vomeronasal signaling, then pervasive loss. Evolution 71:923–935.
- Yohe L.R., Hoffmann S., Curtis A. 2018. Vomeronasal and Olfactory Structures in Bats Revealed by DiceCT Clarify Genetic Evidence of Function. Frontiers in Neuroanatomy 12:32.
- Yohe L.R., Fabbri M., Lee D., Davies T.J.K., Yohe T.P, Sánchez M.K.R., Rengifo E.M., Hall R.P, Mutumi G., Hedrick B.P., et al. 2021. Ecological constraints on

69

highly evolvable olfactory receptor genes and morphology. Evolution 76:2347–2360.

- Yohe L. R., Leiser-MillerL.B., Kaliszewska Z.A., Donat P., Santana S.E., Dávalos L.M. 2021b. Diversity in olfactory receptor repertoires is associated with dietary specialization in a genus of frugivorous bat. G3: Genes, Genomes, Genetics 11.
- Zelditch M. L., Swiderski D.L., Sheets H. D. 2012. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. 2nd edition. Academic Press, New York, USA.