



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

IZTACALA

FILOGEOGRAFÍA, MIGRACIÓN Y EVOLUCIÓN
DE *Leptonycteris curasoae* EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

MIGUEL RENÉ MORALES GARZA

DIRECTORA DE TESIS: Dra. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI
ARRIAGA

MÉXICO D. F.

JUNIO 2007.



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.

Reconocimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la Beca 163212 otorgada para cursar el posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

A la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por aprobar la Tesis y conceder apoyo adicional.

Al proyecto DGAPA-PAPIIT No. IN209501 por haber otorgado el financiamiento para el proyecto.

Al Comité Técnico y de administración del Fondo Institucional, Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado a la Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga a través de la Convocatoria de Apoyos Integrales para la Formación de Doctores en Ciencias 2006.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por el apoyo otorgado para la culminación de la Tesis.

El comité tutorial de esta tesis estuvo conformado por los investigadores:

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga

Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras

Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue posible gracias al apoyo otorgado por los proyectos DGAPA-PAPIIT No. IN209501 a la Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga, y DGAPA-PAPIIT No. IN-208301 al Dr. Alfonso Valiente-Banuet y convocatoria PAPCA-2003 a la Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga y el Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras; las becas DGEP y CONACyT a Miguel René Morales-Garza, el apoyo financiero DGAPA-PAPIIT a Miguel René Morales-Garza. INE-SEMARNAT otorgo los permisos de colecta necesarios para la captura de los murciélagos. También quiero agradecer al COMECyT por el apoyo otorgado para la impresión final de este documento, así como a la DGEP.

A mi tutora la Dra. Coro y al Dr. Valiente "El Vali" por el apoyo que me brindaron todo este tiempo, al Dr. Jorge Campos y la Dra. Martha Martínez por la ayuda en el laboratorio de Biología Molecular. Al Dr. Luis Eguiarte por su participación y comentarios en esta tesis.

Alejandro Monsalvo-Reyes técnico del secuenciador FES-Iztacala UBIPRO (y claro un muy buen amigo) realizó las secuencias del mtDNA. También quiero agradecer al Dr. Rojas-Martínez y al Dr. Woloszyn por la información referente a varios sitios de colecta.

A todas las personas que me acompañaron al campo: Adolfo Vital, Ramón Rivero, Héctor Moya, Juan Pablo Castillo, José Castillo, Gabriel Pecina, Tamara Osorno, Jorge Villalpando, Nancy Sánchez-Casas, Alfonso Torres y Jacinto Treviño.

A mis papas por soportarme todos estos años, por su apoyo incondicional en esta empresa que emprendí hace ya un buen tiempo y claro a mi hermano sólo por ser mi hermano.

A mis amigos "Los muchachos": German "Chester" Zorrilla, Alber Soto, Juan Carlos Chávez, Carlos Aguirre, Tonatiu Pegueros, Adrián "El abejo" Mendoza, Martín Domínguez, Alberto Pegueros, Erika Miruelo, Elizabeth Amuzurrutia, Marcela Pérez, Alejandra Reyes, ya saben por compartir conmigo y estar siempre pidiéndome más cuentas sobre mi doctorado que hasta mi propia tutora, digo no es queja sólo comentario.

A los compañeros del lab.: Paco, Ana, Polo, Carlos, Claudia, María Felix, Carlos Rosas, Fernando, Jennifer, Dr. Hector Godínez, Dr. Raul Cueva.

Al Capush y a la Má y la family por su ayuda y amistad.

Un agradecimiento muy especial para mi Wendy que estuvo conmigo todo el tiempo apoyándome, siendo mi compañera y amiga por sobre todos, lo poco que pueda escribir o decir en este texto no describe en lo más mínimo lo que significa esta preciosa chaparrita para mi.

Indagaciones en torno del murciélago

Los murciélagos no saben una palabra de su prestigio literario.
Con respecto a la sangre, les gusta la indefensa de las vacas, útiles
señoronas incapaces de hacer un collar de ajos, blandir un crucifijo
que los aterre o clavarles una estaca en el pecho.
A la burla sangrienta, al beso impuro (transmisor de la rabia y el
derren-
gue, capaz de aniquilar al matriarcado) oponen sólo un coletazo que
Ya no asusta ni siquiera a los tábanos.
En venganza, los dueños del ganado se divierten crucificando al bebe-
dor como si fuera una huraña mariposa excesiva.
El murciélago acepta su martirio y sacraliza el acto de fumar el ciga-
rillo que cuelgan de su hocico. En vano trata de hacer creer a los
Torturadores que han mojado sus labios con vinagre.
Oí opinar con suficiencia que el murciélago es un ratón alado, un
deforme, un mosquito aberrante, como aquellas hormiguitas un poco
anómalas que se echan a volar anunciando la lluvia.
Algo sé de vampiros, aunque ignoro todo lo referente a los murcié-
lagos. (La pereza me impide comprobar su renombre en cualquier
diccionario.)
prefiero imaginarlo como un reptil neolítico hechizado , detenido en el
tránsito de las escamas al plumaje, en su ya inútil voluntad de con-
vertirse en ave.
Por supuesto es un ángel caído. Ha prestado sus alas y su traje (de
car-
naval) a todos los demonios.
Odia al sol. La melancolía es el rasgo que define su espíritu.
Arracimado habita las cavernas (rumor rasante de su vuelo en tinie-
blas). Conoce los deleites e infiernos de ser un monstruo anónimo
en la masa.
Sufre del mal llamado por los teólogos acidia- tanto ocio engendra
Hasta el nihilismo- y gasta sus mañanas meditando en la profunda
Vacuidad del mundo, espumando su cólera, su *rabia* ante lo que
Hemos hecho de su especie.
Ermitaño perpetuo, vive y muere de pie y hace de cada cueva su Te-
baida.
Así, lo confinamos en el mal porque comparte la fealdad viscosa, el
egoísmo y vampirismo humanos. Recuerda nuestro origen caverna-
rio y tiene una espantosa sed de sangre.
No quiere ver la luz: sabe que un día hará arder en cenizas la caverna.

José Emilio Pacheco

CONTENIDOS

RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
I. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
I. I INTRODUCCIÓN	1
I. II DESCRIPCIÓN DE LAS ZONAS DE ESTUDIO	6
I. II OBJETIVOS	9
I. IV HIPÓTESIS	10
LITERATURA CITADA	11
II. CAPÍTULO 2. Evidences on the migratory movements of the nectar-feeding bat <i>Leptonycteris curasoae</i> in Mexico using RAPD	16
III. CAPÍTULO 3. Diferenciación genética del murciélago magueyero menor <i>Leptonycteris curasoae</i>	28
Resumen	28
III. I INTRODUCCIÓN	29
III. II MATERIALES Y MÉTODOS	33
III. III ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
III. IV RESULTADOS	38
III. V DISCUSIÓN	45
III. VI CONCLUSIONES	49
LITERATURA CITADA	51
IV. CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	59
LITERATURA CITADA	68

Resumen

Leptonycteris curasoae es un murciélago migratorio que presenta una importante relación de polinización con cactáceas columnares y plantas del género *Agave*. Tiene dos subespecies *L. c. yerbabuena* (parte sur de Norteamérica) y *L. c. curasoae* (parte norte de Suramérica). *L. c. yerbabuena* se distribuye en México y el suroeste de los EUA. Se han reportado poblaciones en el centro-sur de México que pudieran ser residentes y que presentan migraciones locales. La nomenclatura y descripción de esta especie no es clara, debido principalmente a su identificación en campo y la designación de subespecies corresponden a fenotipos muy similares pero geográficamente separados en América. Para determinar las relaciones genéticas entre las poblaciones migratorias del norte y las migratorias locales se realizó un estudio genético y se analizó la relación entre las subespecies de *Leptonycteris curasoae*. Primero se determinó la relación genética presente entre 6 poblaciones mexicanas de *L. c. yerbabuena* utilizando la técnica de RAPD. Los resultados indicaron la existencia de dos grupos genéticamente diferentes, divididos en dos zonas geográficas (norte-oeste y centro-sur). Estas diferencias se deben principalmente a un patrón de aislamiento por distancia, es decir no hay intercambio genético entre los grupos definidos.

En la segunda parte del trabajo, se utilizó la técnica de secuenciación del mtDNA. Se muestrearon 10 localidades en México, incluyendo las secuencias reportadas en la literatura para Norteamérica y las secuencias reportadas en el GeneBank para Suramérica. Los resultados sugieren la existencia de tres unidades evolutivas independientes *L. c. yerbabuena*, *L. c. curasoae* y *L. nivalis*. La prueba de AMOVA y Mantel sugieren que actualmente entre las subespecies no existe entrecruzamiento de tal forma que cada una de ellas pudiera ser elevada al rango taxonómico de especie *L. yerbabuena* y *L. curasoae*.

Abstract

Leptonycteris curasoae is a migratory bat species that presents an important pollination relationship with columnar cacti and plants of the genus *Agave*. It has two recognized subspecies *L. c. yerbabuena* (southern part of North America) and *L. c. curasoae* (northern part of South America). *L. c. yerbabuena* can be found through México and the southeast of the United States of America. There are reports of resident populations of these bats in the south-central region of Mexico. This population migrates seasonally on a local scale. The nomenclature and description of this species of bat has not been completely clarified, mostly because of field misidentification and to the description of subspecies that correspond to very similar phenotypes. They have an allopatric distribution; therefore they are separated in the American continent. To determine the genetic relationships between the northern migratory populations and the populations that migrate locally a genetic study was conducted. This study was divided in two parts. In the first part was determined the genetic relationship between 6 Mexican populations of *L. c. yerbabuena* using the RAPD technique. The results indicate the existence of genetically different groups of populations (north-west and south-central). The differences found were due to an effect of isolation by distance. This suggests that there are no genetic interchanges between these groups. The second part of this work was performed with the mtDNA sequencing technique. The sampling in Mexico included four localities more (10 in total); including the sequences reported in the literature for North America and the sequences reported on the GeneBank for South America. The results suggest that there are three independent evolutive units *L. c. yerbabuena*, *L. c. curasoae* y *L. nivalis*. AMOVA and Mantel tests suggest that there is no genetic flux between them. *L. yerbabuena* and *L. curasoae* can be considered as species.

I. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

I. I INTRODUCCIÓN

Leptonycteris curasoae (Phyllostomidae; Glossophaginae) es una especie de murciélago nectarívoro que presenta una amplia distribución en el continente Americano, especialmente en zonas de clima árido y semiárido. Se puede localizar desde el nivel del mar hasta los 1700 msnm, aunque en algunos sitios se ha encontrado a una altitud de 2400 msnm (Arita, 1991; Arita, 2005; Cockrum, 1991). La distribución de *L. curasoae* es disyunta. En el hemisferio Norte se localiza desde el sudoeste de los Estados Unidos, hasta el Salvador. En Sudamérica se ha reportado hacia el norte de Colombia, Venezuela y Curazao. En México se encuentra en hábitats tropicales y subtropicales secos por toda la vertiente del Pacífico desde Sonora hasta Chiapas, incluyendo la depresión del río Balsas. En la vertiente del Golfo de México se distribuye desde el sur de Tamaulipas hasta el sur de Veracruz. También se le puede encontrar en algunas localidades de la altiplanicie mexicana (Arita, 1991; Arita, 2005; Cockrum, 1991).

Esta especie de murciélago es de tamaño mediano con rostro alargado, orejas pequeñas y hoja nasal reducida. Presenta pelaje dorsal corto y áspero con coloración café claro. Su uropatagio esta reducido a una membrana angosta sin fleco de pelos en el borde. Tiene ojos grandes y no presenta cola visible. El género *Leptonycteris* tiene dos especies y una subespecie en Norteamérica *L. curasoae* (*yerbabuena*) y *L. nivalis*, y una subespecie en Suramérica *L. c. curasoae*. En Norteamérica *L. c. yerbabuena* se puede distinguir de *L. nivalis* porque sus alas son generalmente más pequeñas al igual que la tercer falange del tercer dedo, así mismo la coloración de *L. nivalis* es grisácea y su uropatagio presenta un fleco de pelos que se extiende más allá de su borde (Arita, 1991; Arita, 2005). Las medidas externas de *L. curasoae* son: largo total (69-84 mm); largo de pata (13-17 mm); largo de antebrazo (51-56 mm) (Medellín *et al.*, 1997). Su lengua se encuentra recubierta por papilas gustativas en forma de pelos invertidos que le ayudan a absorber el néctar de las flores como si fueran tubos capilares. Esta alimentación la realiza insertando su hocico dentro de

las flores y sosteniéndose con sus patas traseras o manteniendo el vuelo como si fuera un colibrí (Gardner, 1977).

Su importancia ecológica radica en los mutualismos de polinización y dispersión que mantiene con un gran número de especies de cactus columnares (tribu Pachycereeae) (Valiente-Banuet *et al.*, 1996) así como con muchas otras plantas pertenecientes a familias con síndrome quiropterófilo por ejemplo: Agavaceae: *Agave applantata*, *A. colorata*, *A. salmiana*; Bignonaceae: *Crescentia alata*; Bombacaceae: *Ceiba pentandra*, *C. aesculifolia*, *C. grandiflora* (Howell y Roth, 1981; Stoner *et al.*, 2003), Cactaceae: *Carnegia gigantea*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *Mitrocereus fulviceps*, *P. hollianus*, *Stenocereus griseus*, *S. chrysocarpus*, *S. gumosus*, *S. stellatus*, a lo largo de su distribución (Álvarez y González, 1970; Arita, 1991; Arizmendi *et al.*, 2002; Howell y Roth, 1981; Rojas-Martínez *et al.*, 2004; Valiente-Banuet *et al.*, 1996). Ocasionalmente se alimenta de insectos que pudieran encontrarse dentro de las flores cuando se alimenta del néctar y polen (Gardner, 1977).

Siendo el polinizador principal de especies de valor económico para el hombre, se hace clara la necesidad de implementar su protección (Casas *et al.*, 1999a; Casas *et al.*, 1999b; Cervantes, 2002; Reyes *et al.*, 2004). Así mismo, al formar parte de un sistema de mutualismos altamente especializados, donde los integrantes de este sistema forma parte importante para la reproducción por medio de la polinización de las plantas de las que dependen estos murciélagos, así como para la alimentación que obtienen los mismos, queda patente la importancia que esta especie de murciélago presenta en los sistemas de polinización de varias especies de cactus columnares, así como su importancia en los sistemas de zonas áridas y semiáridas (Valiente-Banuet, 2002). *L. curasoae* se encuentra en los listados de protección y conservación de la fauna silvestre (NOM-ECOL-059-2000) debido a que se ha visto una disminución en sus poblaciones en el norte de su distribución (Howell y Roth, 1981).

Investigaciones recientes se han enfocado a estudiar la biología de la especie para de esta forma dar recomendaciones pertinentes para su conservación. Sin embargo, la biología de

L. curasoeae ha girado completamente alrededor de la migración latitudinal (Arita, 1991; Barbour y Davis, 1969; Cockrum, 1991; Fleming *et al.*, 1993; Howell, 1979; Koopman, 1981; Valiente-Banuet *et al.*, 1996).

La migración puede definirse como los movimientos realizados por una especie desde sus sitios de residencia invernal hasta sitios de apareamiento y crianza de primavera (del Hoyo *et al.*, 1992; Dingle, 1996; Fleming y Eby, 2003). En murciélagos se ha observado que las hembras migran a mayores distancias que los machos (Fleming y Eby, 2003).

Sin embargo, no todos los movimientos realizados por una especie son migraciones verdaderas (Neuweiler, 2000), ya que algunos movimientos comprenden únicamente a algunos individuos como los juveniles que se dispersan en cuanto tienen capacidad para ello, o la dispersión de los adultos después de la época de crianza (del Hoyo *et al.*, 1992; Fleming y Eby, 2003); autores como Fleming y Eby, (2003) no consideran los movimientos cortos (<50km) como migratorios. De acuerdo con Neuweiler, (2000) las migraciones también pueden comprender movimientos cortos o de larga distancia los cuales son regulares y predecibles, a los movimientos cortos los denomina como migraciones locales las cuales ha visto pueden realizarse en radios de 70 a 80 km.

La definición de migración con la cual se ha estudiado a *L. curasoeae* en Norteamérica (Álvarez y González, 1970; Fleming *et al.*, 1993; Howell, 1979), corresponde a una migración latitudinal, la cual se define como los movimientos que realiza una especie desde las regiones tropicales de alimentación invernal donde se aparean, hacia las regiones subtropicales donde paren a sus crías (Dingle, 1996), esto implica que la especie se encuentra todo el tiempo en condiciones óptimas de clima y alimentación. Estos movimientos forman parte de la historia de vida de la especie.

Tomando en cuenta que algunas poblaciones de la especie migran de su zona de distribución en el noroeste de México y sudoeste de los Estados Unidos durante otoño e invierno y considerando su dependencia alimenticia al polen y néctar (Howell, 1979; Álvarez y González, 1970; Fleming *et al.*, 1993); Fleming *et al.* (1993) y Wilkinson y Fleming (1996) han propuesto dos posibles rutas de migración que podrían seguir dichas

poblaciones de la especie para escapar de las severas condiciones climáticas invernales que se presentan en el norte, así como a la escasez de recursos florales de los cuales dependen para su alimentación (Howell y Roth, 1981; Álvarez y González, 1970; Arita, 1991; Valiente-Banuet *et al.*, 1996). Una de las rutas es a lo largo de la costa oeste de México por la parte del Pacífico y la otra es por la parte baja de la Sierra Madre Occidental. De esta forma se propone la existencia de una migración generalizada de las poblaciones de *L. curasoe* de la parte norte de su distribución (Wilkinson y Fleming, 1996) que consiste en movimientos latitudinales desde el norte de su distribución llegando hasta el centro sur de esta, siguiendo corredores de floración de las especies de las cuales se alimentan.

En contraposición, se ha observado que la escasez estacional de flores no se presenta en Baja California y las condiciones climáticas son estacionalmente estables para la sobrevivencia de la especie, por lo que *L. curasoe* se ha propuesto como residente en esta zona (Woloszyn y Woloszyn, 1982). Además, los trabajos realizados por Rojas-Martínez *et al.* (1999) y Valiente-Banuet *et al.* (1996) sugieren la existencia dos poblaciones distintas de la especie: una residente en el trópico mexicano alimentándose de los recursos presentes en esta zona a lo largo del año y otra migratoria, la cual realiza movimientos latitudinales desde el sudoeste de los E. U. A. a algún lugar del centro de México durante otoño e invierno en busca de recursos y de mejores condiciones climáticas.

Sin embargo, la hipótesis que Rojas-Martínez *et al.* (1999) y Valiente-Banuet *et al.* (1996) proponen implica una dirección específica de los movimientos migratorios (norte-sur, trópico-subtrópico) y no consideran la migración en el sentido de Del Hoyo *et al.* (1992) y Dingle (1996), donde la migración no depende de la dirección de los movimientos.

Rojas-Martínez *et al.* (1999) reporta haber encontrado dos periodos reproductivos al año en la zona centro (trópico) de la distribución de *L. curasoe*, uno durante el periodo invierno a primavera y otro durante el verano. Así los inmigrantes invernales norteros podrían aparearse con los individuos que considera como residentes de la parte centro-sur de México, habiendo un intercambio genético entre las poblaciones. En Chamela se reporta un patrón reproductivo similar al descrito por Rojas-Martínez *et al.* (1999) donde *L. curasoe*

presenta dos periodos de apareamiento durante los periodos de diciembre a marzo y otro de julio a septiembre (Ceballos *et al.*, 1997; Stoner *et al.*, 2003).

Galindo *et al.* (2004) presentan datos sobre la existencia de una población residente de *L. curasoe* en la cueva de Tzinacanostoc, Guerrero. Sus resultados indican que la población completa su ciclo vital en dicha localidad, concordando con la posibilidad de la existencia de poblaciones residentes en la parte del trópico mexicano. Sin embargo, también sus datos sugieren que la población estudiada de *L. curasoe* sólo presenta un periodo reproductivo al año durante los meses de agosto a octubre y no dos como han propuesto Rojas-Martínez *et al.* (1999) y Stoner *et al.* (2003).

Tellez (2001) por su parte sugiere que *L. curasoe* presenta dos patrones migratorios, uno que comprende a las poblaciones que tienen a sus crías durante primavera y que migran entre el trópico de México (al menos tan al sur como la región de Chamela) y hacia el norte al desierto de Sonora. El segundo en el cual las poblaciones que se encuentran durante primavera y verano en los desiertos de la zona central de México se mueven durante otoño e invierno hacia el bosque seco en la parte central de México, probablemente hacia el valle de Tehuacán.

Considerando que algunas poblaciones de *L. curasoe* son migratorias y que viajan desde la zona norte-oeste de su distribución hasta la zona centro-sur (Fleming *et al.*, 1993; Wilkinson y Fleming, 1996), pudiera presentarse un intercambio reproductivo con las poblaciones que algunos autores consideran residentes de la parte centro-sur (Galindo *et al.*, 2004; Rojas-Martínez *et al.*, 1999).

De igual forma la especie en Norteamérica ha sufrido varios cambios de nomenclatura lo cual ha dificultado en cierta medida el análisis de su biología (Arita y Humphrey, 1988; Davis y Carter, 1962; Simons y Wetterer, 2002). En el trabajo realizado por Arita y Humphrey (1988) se sugiere que la especie *L. curasoe* tiene dos subespecies, una para Norteamérica (*L. c. yerbabuena*) y otra para Suramérica (*L. c. curasoe*). Wilkinson y Fleming (1996) utilizando técnicas de biología molecular encuentran diferencias entre

muestras analizadas de las dos subespecies, aunque mantienen la misma nomenclatura. Posteriormente, Simons y Wetterer (2002) consideran a estas dos subespecies como especies diferentes. De igual forma Cole y Wilson (2006) en una publicación reciente presentan a la subespecie *L. c. yerbabuena* como *L. yerbabuena* considerándose así como una especie diferente de *L. curasoae*.

El presente trabajo se enfocó en estudiar las relaciones resultantes entre las diferentes poblaciones estudiadas del murciélago *L. curasoae* a lo largo de su rango de distribución en México a partir de la hipótesis migratoria latitudinal propuesta hasta el momento. Para ello se aplicaron las técnicas moleculares de RAPD y mtDNA, con el fin de complementar los estudios convencionales tales como la técnica de captura y recaptura de ejemplares que se han llevado a cabo durante estudios previos de esta especie y también poder aportar información complementaria a los estudios taxonómicos realizados.

I. IV DESCRIPCIÓN DE LAS ZONAS DE ESTUDIO

Se visitaron un total de 10 sitios para la toma de muestras localizadas dentro del rango de distribución de *L. curasoae* en México durante los periodos de primavera y verano del 2001 al 2004. También se recibió en donación una muestra de sangre de *L. curasoae* proporcionada por el Dr. Luís Gerardo Herrera Montalvo de una cueva en la comunidad de Tilapa Veracruz, a los (18°48' N y a 97°06' O). A continuación se describen las características particulares de los sitios visitados.

Oaxaca-Puebla (Nochixtlán): Se visitó una cueva localizada hacia la parte centro-sur de México en el Valle de Tehuacán entre los 18°05' de latitud norte y los 97°37' de longitud oeste a una altitud de 1978 msnm. Es una región semiárida localizada en la frontera sureste de Puebla y la frontera noreste de Oaxaca. La vegetación predominante es matorral xerófilo (Rzedowski, 1978) y presenta un promedio anual de lluvia de 495 mm y una temperatura promedio de 21° C. La presencia de la especie se reporta como anual (Rojas-Martínez *et al.*, 1999; Rojas-Martínez, 2001). Se colectaron muestras el 28 y 29 de abril, 2001.

Hidalgo (Xoxafi): La cueva se encuentra situada a 6 km N de Lagunillas entre los 20°29' de latitud norte y los 99°38' de longitud oeste con una altitud de 2000 msnm. La temperatura promedio es de 20° C, dentro de la cueva es de 24° C, la vegetación es de tipo chaparral o mexical (Rzedowski, 1978), donde se ha registrado a la especie de febrero a septiembre (Álvarez *et al.*, 1999). Se colectaron muestras el 19 de mayo, 2001.

Morelos (Ticumán): Cueva situada a 4 km noroeste de Xochimacas entre los 18°46' de latitud norte y los 98°55' de longitud oeste, con una altura de 1300 msnm. Presenta una temperatura promedio de 25.5° C y dentro de la cueva de 23.5° C, se encuentra rodeada por vegetación de selva baja caducifolia, con una precipitación anual de 1420 mm y con una presencia anual de la especie (Álvarez *et al.*, 1998; Álvarez *et al.*, 1999). Se colectaron muestras el 24 de marzo, 2001.

Jalisco (Chamela): La toma de muestras se realizó en Isla Pajarera, localizada en la Bahía de Chamela Jalisco a 19°32' de latitud norte y 105°07' de longitud oeste, a una elevación de 150 msnm. La isla se encuentra cerca de una cueva localizada en la Isla Don Panchito aproximadamente a 500 m de distancia. La temperatura promedio es de 24.9° C, con un promedio anual de lluvia de 748 mm. Se ha registrado la presencia anual de la especie (Stoner *et al.*, 2003). La vegetación presente se compone por bosque tropical deciduo (Bullock y Solis-Magallanes, 1990; Rojas-Martínez *et al.*, 1999; Rojas-Martínez, 2001). Se colectaron muestras el 26 al 31 de marzo, 2002.

Sonora (Bahía Kino): Cueva de Bahía Kino, se encuentra localizada en las afueras del pueblo de Bahía Kino a 28°53' de latitud norte y 142°00' de longitud oeste, presenta una temperatura promedio de 25° C. La precipitación es de 200 mm anuales, presentándose la mayor parte de la precipitación de julio a septiembre. La vegetación presente se compone por matorral xerófilo. Aquí se ha observado a la especie de abril a junio (Rojas-Martínez, *et al.*, 1999; Rojas-Martínez, 2001). Se colectaron muestras el 26 de junio, 2002.

Baja California (Las Cuevas): Localizada entre los 23°31' de latitud norte y los 109°37' de longitud oeste con una altura de 100 msnm. La temperatura media anual es de 20° C.

Presenta una precipitación anual de 400 mm. La vegetación presente se compone por matorral xerófilo, la presencia de la especie es anual (Woloszyn y Woloszyn, 1982). Se colectaron muestras el 6 de julio, 2002.

Tamaulipas (Tula): Este sitio se encuentra ubicado entre los 22°59′ de latitud norte y los 99°43′ de longitud oeste con una altura de 1047 msnm, con clima semi-cálido y una temperatura promedio de 18° C. La precipitación media anual es de 400 mm. La vegetación corresponde a un matorral xerófilo formado por basaltos de edad reciente. No se ha reportado el estatus de la especie en esta zona. Se colectaron muestras del 16 al 17 de mayo, 2003.

Guanajuato (El Copudo): Esta cueva se encuentra localizada entre los 21°08 de latitud norte y los 100°04′ de longitud oeste con una altura de 1876 msnm. La temperatura media anual es de 19° C. Presenta una precipitación media anual de 540 mm. La vegetación presente se compone por matorral crasicale, la presencia de la especie se relaciona a la floración de las especies quiropterófilas, determinándose como biestacional (Castillo, 2003). Se colectaron muestras el 4 al 7 de noviembre, 2001.

Chiapas (Los Laguitos): Esta cueva se encuentra localizada entre los 16°47′ de latitud oeste y entre los 93°09′ de longitud oeste a una altura de 730 msnm. La cueva se encuentra en los límites de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez. La vegetación presente se compone por selva baja caducifolia (Téllez, 2001). Se colectaron muestras el 4 de septiembre, 2003.

I. V OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar genéticamente las poblaciones de *Leptonycteris curasoae* para determinar el grado de diversidad (polimorfismos) que presentan, así como los niveles de aislamiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Por medio de los marcadores tipo RAPD determinar los polimorfismos a nivel del DNA, el flujo génico, tamaño efectivo de la población y diversidad genética.
- Estimar mediante los índices de diversidad genética la extensión del movimiento de las poblaciones del norte y las posibles rutas de migración.
- Obtener la secuencia de una región del DNA mitocondrial de los individuos muestreados para determinar haplotipos y compararlos con los reportados.
- Determinar la relación existente entre las poblaciones de *L. curasoae yerbabuena* y *L. c. curasoae*.
- Determinar las relaciones filogenéticas entre las poblaciones localizadas hacia la parte oriental y poblaciones de la parte occidental de la Sierra Madre.

I. VI HIPÓTESIS

Leptonycteris curasoae es un murciélago nectarívoro migratorio que presenta una distribución disyunta en el Continente Americano. Su área de distribución comienza en el suroeste de los E. U. A. hasta el Salvador desapareciendo en Centroamérica y reapareciendo en el norte de Venezuela, Colombia y algunas Islas del Caribe. Se ha propuesto que en México existen al menos dos grupos poblacionales distintos de *L. curasoae* que presentan diferentes patrones de conducta, el grupo poblacional norteño que migra de norte a sur, mientras que el grupo poblacional tropical migra de forma local. Estas dos grupos poblaciones podrían estar aisladas o presentar solapamientos que impliquen flujo génico. Mientras que el grupo poblacional que esta en Venezuela es completamente alopátrica. Si existe un aislamiento reproductivo entre las poblaciones deberíamos encontrar niveles bajos de flujo génico entre ellas, y altos niveles de estructuración genética.

Literatura Citada

Álvarez T. y González Quintero L. 1970. Análisis polínico del contenido gástrico de murciélagos Glossophaginae de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **18**, 137-165.

Álvarez T. N., Sánchez-Casas y A. Ocaña. 1998. La mastofauna de la región de Ticumán, Morelos, México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **43** (1-4), 51-66.

Álvarez T. N., Sánchez-Casas y J. A. Villalpando. 1999. Registro de los movimientos de *Leptonycteris curasoae yerbabuenae* en el centro de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **45**, 9-15.

Arita H. T. 2005. *Leptonycteris curasoae* Miller 1900. En: Los Mamíferos Silvestres de México. Eds. Gerardo Ceballos y Gisselle Olivia. CONABIO pág. 221-222.

Arita H. T. 1991. Spatial segregation in long-nosed bats, *Leptonycteris curasoae*, in Mexico. *Journal of Mammalogy*. **72**, 706-714.

Arita H. T. y Humphrey S. R. 1988. Revisión taxonómica de los murciélagos magueyeros del género *Leptonycteris* (Chiroptera:Phyllostomidae). *Acta Zoológica de México*. **29**, 1-60.

Arizmendi M. C., Valiente-Banuet A., Rojas-Martinez A. y P. Dávila-Aranda. 2002. Columnar Cacti and the Diets of Nectar-Feeding Bats. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, eds. Theodore H. Fleming y Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

Barbour R. W. y Davis W. H. 1969. *Bats of America*. University of Kentucky Press, Lexington Kentucky. pp. 286.

Bullock S. H. y Solis-Magallanes A. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*. **22**, 22-35.

Casas A., Caballero J, Valiente-Banuet A., Soriano J. A. y P. Dávila. 1999a. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in central Mexico. *American Journal of Botany*. **86**, 522–533.

Casas A., Valiente-Banuet A., Rojas-Martínez A., y P. Dávila. 1999b. Reproductive Biology and the Process of Domestication of the Columnar Cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico. *American Journal of Botany*. **86** (4), 534-542.

Castillo L. J. P. 2003. Biología de la polinización de *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum una cactácea con floración biestacional. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Cervantes Ramírez M. C. 2002. *Plantas de Importancia Económica en las Zonas Áridas y Semiáridas de México*. Temas Selectos de Geografía de México. I. 5. 3. Instituto de Geografía UNAM. pp. 155.

Ceballos G., Fleming T. H., Chávez C. y Nassar J. 1997. Populations dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera; Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal of Mammalogy*. **78**: 1220-1230.

Cockrum E. L. 1991. Seasonal distribution of northwestern populations of the long nosed bats family Phyllostomidae. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México Serie Zoológica*. **62**, 181-202.

Cole F. R. y D. E. Wilson. 2006. *Leptonycteris yerbabuena*. *Mammalian species*. **727**, 1-7.

Davis W. B. y D. C. Carter. 1962. Review of the genus *Leptonycteris* (Mammalia: Chiroptera). *Proceedings of the Biological Society o Washington*. **75**, 193-198.

Del Hoyo J., Elliott A. y Sargatal J. Eds. 1992. *Handbook of the birds of the world*. Vol. 1. Linx Editions. Barcelona. pp. 696.

Dingle R. D. 1996. *Migration: the biology of the life on move*. Oxford University Press, Oxford. pp. 474.

Fleming T. H. y P. Eby. 2003. Ecology of Bat Migration. En: *Bat Ecology*. Eds. Thomas H. Kunz y M. Brock Fenton. The University of Chicago Press. pp. 779.

Fleming T. H., Nunez R. A. y Sternberg L. S. L. 1993. Seasonal changes in the diets of migrants and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. *Oecologia*. **94**, 72-75.

Galindo G. C., Sánchez Q. A., Quijano R. H. y L. G. Herrera M. 2004. Population Dynamics of a Resident Colony of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Central Mexico. *Biotropica*. **36**(3), 382-391.

Gardner A. L. 1977. Feeding habits. In: Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, part II eds. R.J. Baker, J.K. Jones and D.C. Carter, *Special Publications The Museum, Texas Tech University*. **13**, 293-350.

Howell D. J. y B. S. Roth. 1981. Sexual reproduction in agaves: the benefits of bats; the cost of semelparous advertising. *Ecology*. **62**, 1-7.

Howell D. J. 1979. Flock foraging in nectar-feeding bats: advantages to the plants and the host-plants. *American Naturalist*. **114**, 23-49.

Koopman K. F. 1981. The distributional paterns of new world nectar feeding bats. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*. **68**, 352-369.

Medellin R. A., Arita H. T. y H. Ó. Sánchez. 1997. Identificación de los Murciélagos de México, Clave de campo. Asociación Mexicana de Maztozoología, A.C. México. pp. 83.

Neuweiler G. 2000. *The Biology of Bats*. Oxford University Press. New York. New York. pp. 310.

Reyes S. J., Brachet I. C., Pérez C. J. y A. Gutierrez de la Rosa. 2004. *Cactáceas y otras plantas nativas de la cañada Cuicatlán, Oaxaca*. Instituto de Biología UNAM.

Rojas-Martínez A., Alcántara-Egúren A., Valiente-Banuet A. y Ma. del C. Arizmendi. 2004. Estacionalidad de los recursos florales y distribución del murciélago nectarívoro *Leptonycteris curasoae*, en norteamérica. En: *Homenaje a la Trayectoria Maztozoológica de José Ramírez Pulido*. Eds. Castro Campillo A. y J. Ortega. UAM-I, México. pp. 219-233.

Rojas-Martínez A., 2001. Determinación de los movimientos altitudinales estacionales de tres especies de murciélagos nectarívoros (Phyllostomidae: Glossophaginae) en el valle de Tehuacán y la cuenca del Balsas, México. Tesis de Doctorado. UNAM. México.

Rojas-Martínez A., Valiente-Banuet A., Arizmendi Ma. del C., Alcántara-Egúren A. y Arita H. 1999. Seasonal permanence of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in North America: Does a generalised migration pattern really exist? *Journal of Biogeography*. **26**, 1065-1070.

Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México. pp. 432.

Simons N. B. y A. L. Wetterer. 2002. Columnar Cacti and the Diets of Nectar-Feeding Bats. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, Eds. Theodore H. Fleming & Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

SEMARNAT 2000. *Norma Oficial Mexicana*. NOM-059-ECOL-2000. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y establece especificaciones para su protección. *Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos*, CDLXXXVIII, No. 11.

Stoner K. E., Karla A., O.-Salazar, Roxana C., R.-Fernández y M. Quesada. 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*. **12**, 357-373.

Téllez Z. J. G. 2001. Migración de los murciélagos-hocicudos (*Leptonycteris*) en el trópico mexicano. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias UNAM.

Valiente-Banuet A., Arizmendi Ma. del C., Rojas-Martínez A. y L. Domínguez-Canseco. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal Tropical Ecology*. **12**, 103-119.

Valiente-Banuet A., 2002. Vulnerabilidad en los sistemas de polinización de cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural*. **75**, 99-104

Wilkinson G. S. y Fleming T. H. 1996. Migration and evolution of the lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. **5**, 329-339.

Woloszyn D. y D. D. Woloszyn. 1982. *Los Mamíferos de la Sierra de la Laguna, Baja California Sur*. 167 pp. CONACyT, México.

II. CAPÍTULO 2. Evidences on the migratory movements of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in Mexico using RAPD.



Journal of Arid Environments 68 (2007) 248–259

Journal of
Arid
Environments

www.elsevier.com/locate/jaridenv

Evidences on the migratory movements of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in Mexico using random amplified polymorphic DNA (RAPD)

M.R. Morales-Garza^a, M. del C. Arizmendi^{a,*}, J.E. Campos^a,
M. Martínez-García^a, A. Valiente-Banuet^b

^aUnidad de Biología, Tecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, A. P. 314, Tlahuepanitla, Edo. de México, 54000, México

^bDepartamento de Ecología de la Biodiversidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, A. P. 70-275, Ciudad Universitaria, México, D. F. 04510, México

Received 6 April 2005; received in revised form 13 February 2006; accepted 24 May 2006

Available online 1 August 2006

Abstract

We examined the genetic relatedness of six populations of *Leptonycteris curasoae* in Mexico using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *L. curasoae* is a migratory bat species that pollinates columnar cacti in north-western Mexico, southern Arizona, and south-western New Mexico but may have non-migratory populations in Mexico. We collected 137 samples from six sites: two in north, one in the west, and three in south-central Mexico. The RAPD banding pattern of the bats from each site were used to calculate the proportion of polymorphic loci. The average of polymorphic bands for the south-central population was 65% and for the north-west population was 53%. AMOVA was used to obtain the variance between ($VA = 60.84\%$) and within sites ($VB = 39.16\%$), meaning that the greater variation is contained among sites and lesser variation inside them. The correlation between geographic and genetic distances was analyzed with a Mantel non-parametric test ($r = 0.72$), suggesting a structured population for this species. Our results indicate the presence of two well differentiated populations of *L. curasoae*, one in south-central Mexico and the other along the Pacific coast ranging from northern Mexico, including Baja California, Sonora, and Jalisco.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: AMOVA; Migration; Polymorphism; Polymorphic loci; Genetic variation

*Corresponding author. Tel.: + 52 56 23 11 30, + 52 56 23 12 24; fax: + 52 56 23 12 25.

E-mail addresses: ckimusmx@yahoo.com.mx (M.R. Morales-Garza), coro@servidor.unam.mx (M.C. Arizmendi), jcampos@servidor.unam.mx (J.E. Campos), avali@servidor.unam.mx (A. Valiente-Banuet).

1. Introduction

The tropical long-nosed bat *Leptonycteris curasoae* Martínez and Villa (Phyllostomidae; Glossophaginae) is considered an endangered species (USFWS, 1986; SEDESOL, 1994; SEMARNAT, 2000). *L. curasoae* is highly specialized in feeding on floral resources in arid and semi-arid environments of North America (Álvarez and González, 1970) and is considered as the most important pollinator of columnar cacti (tribe Pachycereae) as well as plants of the genus *Agave* in North America (Valiente-Banuet et al., 1996a, b, 1997a, b).

This bat has been considered as a generalized latitudinal migrant, moving from Mexico to the south-west United States during spring where large maternity colonies are formed, and moving south to Mexico in the summer (Barbour and Davis, 1969; Howell, 1979; Koopman, 1981; Arita, 1991; Cockrum, 1991; Fleming et al., 1993). Fleming et al. (1993) and Wilkinson and Fleming (1996) proposed two possible migration routes: either along the Pacific coast ranging from Guerrero to the southwest United States, or inland from Chiapas to the south-west United States. In contrast, considering the continuous availability of flowers and fruits in this area Woloszyn and Woloszyn (1982) proposed that at latitudes around 24°N in Baja California, *L. curasoae* is a year-round resident. Recently, Rojas-Martínez et al. (1999) analyzed 94 years of capture records of North American mammal collections ($N = 1881$) and proposed that the latitudinal migration of *L. curasoae* appears to occur only at its northern range of distribution at latitude near 30°N, where feeding resources of this bat are not produced throughout the year. In tropical areas below 23°N only short distance elevation migrations can be documented. Rojas-Martínez et al. (1999) suggest, that the residence of this nectar-feeding bat at latitude around 18° can be associated with the availability of floral resources throughout the year.

This bat forms large maternity colonies in south-western USA during spring (Barbour and Davis, 1969; Howell, 1979; Koopman, 1981; Cockrum, 1991; Fleming et al., 1993). In Chamela it has been reported that this species has two reproductive bouts per year, one from December to March and another from July to September where females have their offsprings (Stoner et al., 2003). For the same locality Ceballos et al. (1997) reported breeding activity but not births, concluding that females reproduce in Chamela and then migrate north to give birth at the maternity roost found in south-western USA. Stoner et al. (2003) found very small juveniles at this cave during January indicating that at least some of the females breeding here do not migrate, and also use the cave as maternity roost. In central Mexico, Rojas-Martínez et al. (1999) reported a similar situation with two reproductive bouts in a year, one during winter spring and another in the summer.

If a generalized migratory pattern occurs all along the distribution range of this nectar-feeding bat (Barbour and Davis, 1969; Howell, 1979; Koopman, 1981; Arita, 1991; Cockrum, 1991; Fleming et al., 1993), the northern population may have genetic interchange with the bats inhabiting tropical locations ($N_{em} > 1$), assuming the populations are large and maintain gene flow through reproductive contact today (as stated by Fleming et al., 1993; Ceballos et al., 1997). Here we present a study to test this hypothesis investigating the genetic diversity and the existence of a high number of effective migrants between *L. curasoae* individuals captured at its northern range of distribution in Mexico (Baja California and Sonora), with individuals captured within the tropical area of west Mexico (Jalisco), and south-central México (Oaxaca-Puebla, Morelos, and Hidalgo), using random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Phillips et al., 1991; Black, 1993). If *L. curasoae* has a single migratory population as has been

proposed by Fleming et al. (1993) and Wilkinson and Fleming (1996), the species should have a higher N_{em} value (which is defined as the effective number of migrants, Crow and Aoki, 1984; Sork et al., 1999) between the south-central and northern sites. However if northern individuals only migrate from south-western United States toward the tropical deciduous forests of the Pacific coast of Mexico and a separate resident population inhabits tropical areas of central Mexico, little or no gene flow should be found between these populations (due to historical contact between populations). Finally, if the population of Baja California Peninsula has no breeding contact with adjacent populations in Sonora or even Jalisco, then there should be little or no gene flow between the Baja California Peninsula and the continent.

2. Materials and methods

2.1. Study sites

A total of six study sites located along the distribution range of *L. curasoae* in Mexico were visited for bat captures during the spring/summer period of 2001 and 2002 (Fig. 1, Table 1).



Fig. 1. Location of sampled sites in México: ● Indicate sites sampled in the south-central region (Nochixtlan in the limits of Oaxaca-Puebla, Ticumán/Morelos and Xoxafi/Hidalgo), ★ Indicates sites sampled in the north-western region (Chamela/Jalisco, Kino Bay/Sonora and Las Cuevas/Baja California).

Table 1
Number of samples per study site, latitude and longitude, meters above sea level, vegetation, and reference

Population sampled	State in Mexico	<i>N</i> (137)	Position	Altitude* (masl)	Vegetation	Reference
Nochixtlán	Oaxaca	25	18°05'N	1978	Arid tropical scrub	Rojas-Martínez et al. (1999), Rzedowski (1978)
Xoxafi	Hidalgo	22	97°37'W 20°29'N	2000	Evergreen sclerophyllous vegetation or mexical	Álvarez et al. (1999), Rzedowski (1978)
Ticumán	Morelos	19	99°38'W 18°46'N	1300	Tropical deciduous forest	Álvarez et al. 1998, 1999
Chamela	Jalisco	21	98°55'W 19°32'N	150	Tropical deciduous forest	Stoner et al. (2003), Rojas et al. (1999)
Kino Bay	Sonora	26	105°07'W 28°53'N	200	Arid tropical scrub	Rojas et al. (1999)
Las Cuevas	Baja California Sur	24	111°55'W 23°31'N 109°37'W	100	Arid tropical scrub	Woloszyn and Woloszyn (1982)

N = number of bats sampled in each site.

*m.a.s.l. = meters above sea level.

2.2. Sampling and DNA extraction

We designed a scheme to collect samples of six sites, considering the migratory hypothesis in which the population is panmictic and localities in which *L. curasoae* is only found in the northern part of its distribution during spring and summer and in the south-central part during fall and winter. We visited one cave in the north (Kino Bay) and one in the west (Chamela) during the spring–summer period of 2001. Since the population of bats is present year round in Baja California we visited the cave located in Las Cuevas Baja California during the spring/summer period of 2001. To investigate the hypothesis of some bat populations present year round in the south-central part of their distribution, we visited three caves during spring/summer of 2002: one in Oaxaca (Nochixtlán), one in Hidalgo (Xoxafi), and one in Morelos (Ticuman). Considering the evidence of different migratory corridors and that the continental population of *L. curasoae* is migratory, we expected to find the roosting sites empty during spring/summer in the south-central part of the distribution. However, this did not occur during the course of this investigation.

In each locality bats were captured using mist nets located either in the roosting cave entrance or in the field around columnar cacti or agaves. A total of 137 individuals were sampled (Table 1) by dissecting a small part of the interfemoral membrane according to Wilkinson and Fleming (1996). The sampled tissues were preserved in DMSO solution according to Seutin et al. (1991), then transferred to the laboratory and kept at -70°C . DNA was isolated from the interfemoral membrane using the DNAeasy tissue kit from QiagenTM.

2.3. Amplification conditions

PCR amplification reaction was performed in $25\ \mu\text{l}$ containing $0.37\ \text{mM}$ of MgCl_2 , $0.25\times$ PCR Buffer, $0.2\ \text{mM}$ of each dNTP's, $2\ \mu\text{M}$ primer, 1 unit of Taq Polymerase (GIBCO BRL), and $40\text{--}50\ \text{ng}$ template DNA (Livinson and Taylor, 1992). In total, 24 primers (Operon Technologies, Alameda CA) were assayed and seven primers were fully standardized and selected for their ability to produce reproducible RAPD markers (bands): A02 ($5'\text{TGCCGAGCTG}3'$), A04 ($5'\text{AATCGGGCTG}3'$), B10 ($5'\text{CTGCTGGGAC}3'$), B17 ($5'\text{AGGGAACGAG}3'$), J13 ($5'\text{CCACACTACC}3'$), J20 ($5'\text{AAGCGGCCTC}3'$), E14 ($5'\text{TGCGGCTGAG}3'$).

DNA amplification was performed using a Perkin-Elmer GeneAmp PCR system 2400 (Norwalk, USA) according to the following program: 92°C for 1 min (denaturalization), 37°C for 1 min (hybridization), 72°C for 2 min (45 cycles), followed by a final extension of 72°C for 7 min.

2.4. Data analysis

The PCR products were separated by electrophoresis on 1.2% agarose gels using a TBE $0.5\times$ buffer (Sambrook and Fritsch, 1989), visualized by ethidium bromide staining, and the images digitalized. Only reproducible and consistent markers were scored for the analysis (Pérez et al., 1998). Each band in the RAPD profile was considered as an independent locus with two alleles and treated as DNA fingerprints (Allnutt et al., 1999). The RAPD markers were scored as present (1) or absent (0). The resulting 1/0 matrix was used as input to a bootstrap procedure using the Phylip 3.5 software package (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>) (Seattle, WA, USA). Each of the 100 bootstrap replicates was created by randomly taking a single band or locus from the original data set with replacement, and the resulting matrix has the same size as the original data set. Genetic similarity was estimated according to Nei and Li (1979) using DIST of the software package Phylip 3.5 (Felsenstein, 2004). The similarity matrices were analyzed using unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA cluster analysis) (Sneath and Sokal, 1973). A consensus tree was drawn using the Phylip 3.5 (Uptmoor et al., 2003).

With the presence/absence matrix obtained from the RAPD markers a genetic distance matrix was constructed using the Nei's unbiased distance (Nei and Li, 1979). The geographic distance matrix was correlated with the genetic distance matrix using the Mantel's non-parametric test (Manly, 1997) with the program TFGA (<http://bioweb.usu.edu/mpmbio/>) (Logan, UT, USA).

The proportion of polymorphic loci (P) was calculated according to Hedrick (1983), and deemed a locus polymorphic if the most common allele does not exceed 99% of the total

population or if there is more than one allele. It was obtained by dividing the number of polymorphic loci (x) among the total number of analyzed loci (n): $P = x/n$. To infer the levels of the structure of the population, an AMOVA test was used for each pair of populations. AMOVA yielded an estimate of Φ_{ST} of population structure (Excoffier et al., 1992). This coefficient was used to estimate the effective number of migrants ($N_e m$) (Crow and Aoki, 1984; Sork et al., 1999), based on the relationship $\Phi_{ST} = 1/(4N_e m a + 1)$, where $a = [n/(n - 1)]^2$, and n is the number of sampled sites (Takahata, 1983; Takahata and Nei, 1984; Chakraborty and Leimar, 1987).

3. Results

The individuals from south-central sites present an average polymorphism ranging from 0.61 to 0.68 (Table 2). The individuals from the western sites present a 0.54 average polymorphism, and those from the north sites range from 0.49 to 0.55. These banding patterns were consistent for all sampled individuals. From the banding pattern, we obtained the percentage of polymorphic loci per sampling site. Comparing the values of the polymorphisms it becomes clear that the western and northern sites have similar polymorphic patterns, which are different from the ones in the south-central sites. This is illustrated by comparing the average of the polymorphic bands for the south/central population (0.65) to the average of the northwest population (0.53) (Table 2).

AMOVA was used to obtain the variance between ($V(A) = 60.84\%$) and within sites ($V(B) = 39.16\%$). Variance between sites was 60.84% and within sites was 39.16%, meaning that the greater variation is contained among sites and lesser variation inside them, suggesting a structured population for this species. Furthermore, with the $\Phi_{ST} = 0.608$ ($V(A) = 9.4992$ (60.84%); $V(B) = 6.1152$ (39.16%)) obtained from the AMOVA, an estimate of the effective number of migrants was calculated ($N_e m = 0.11$) indicating a very low value of genetic interchange among all populations.

We estimated the effective number of migrants between paired populations from the data obtained in the AMOVA. Values of $N_e m$ below 1 indicate low gene flow among populations (Crow and Aoki, 1984; Sork et al., 1999). Between north-west and south-central populations $N_e m$ is always below 1 (Table 3). $N_e m$ values above 1 can be found

Table 2
Polymorphisms per primer found in the six sampled sites of *L. curvasoae* in Mexico

Primer	No. bands	South-central			West	North	
		Ticumán	Nochixtlán	Xoxafi	Chamela	Kino Bay	Las Cuevas
A02		0.80	0.50	0.50	0.60	0.60	0.90
A04		0.50	0.60	0.50	0.60	0.60	0.60
B10		0.44	0.77	0.66	1.00	0.88	0.66
B17		0.80	0.66	0.73	0.46	0.40	0.40
J13		0.38	0.46	0.38	0.46	0.53	0.58
J20		0.70	0.94	0.94	0.35	0.29	0.41
E14		0.66	1.00	1.00	0.83	0.50	0.83
Average (sites)		0.61 ^a	0.68 ^a	0.66 ^a	0.54 ^b	0.49 ^b	0.55 ^b
Average (Pop.)		0.65			0.52		

^{a,b}Represent different values according to a Student's *t*-test.

Table 3
Paired N_m between sites (south-central sites: Ticumán, Nochixtlán, and Xoxafi, west site: Chamela and north sites: Las Cuevas, and Kino Bay)

	Ticumán	Nochixtlán	Xoxafi	Las Cuevas	Kino Bay	Chamela
Ticumán	0					
Nochixtlán	1.7654	0				
Xoxafi	2.8284	3.6970	0			
Las Cuevas	0.4192	0.3588	0.3629	0		
Kino Bay	0.4754	0.4188	0.4281	1.7412	0	
Chamela	0.5494	0.4590	0.4736	2.1836	2.4211	0

when comparing north-western populations and also among the south central ones, respectively.

A Mantel test was performed using the RAPD data and the geographic distances ($r = 0.72$) showing that the genetic distance among populations is correlated with the geographical distance. The sampled sites at the south-central part of *L. curasoae* distribution (Nochixtlán/Oaxaca-Puebla, Ticumán-Morelos, and Xoxafi-Hidalgo) group together apart from the other sites in the north (Kino Bay-Sonora and Las Cuevas-Baja California) and the west site (Chamela-Jalisco) (Fig. 2).

4. Discussion

It has been reported that northern populations of *L. curasoae* migrate during the winter and fall (Barbour and Davis, 1969; Howell, 1979; Koopman, 1981; Arita, 1991; Cockrum, 1991; Fleming et al., 1993), moving south into south-central Mexico using the sequential blooming of Chiropterophilous plant species (Arita, 1991; Fleming et al., 1993). Data presented here indicate that the northern populations of *L. curasoae* maintain a considerable level of gene flow with Chamela population, but very little with the south-central sites of Mexico. This can be caused by many factors that are not mutually exclusive, including: (a) low number of migrants presently reach southern sites due to higher availability of resources in the western nectar corridor (Rojas-Martinez et al., 2001); (b) a large resident population in central Mexico compared to very little migrants (Rojas-Martinez et al., 1999); and (c) the resident population in Chamela that can move southwards to central Mexico and northwards to southwestern USA that interbreeds (Stoner et al., 2003).

Our results indicate that there are two different populations of *L. curasoae* that seem to be in the process of genetic differentiation. One is a resident population inhabiting central Mexico (Rojas-Martinez et al., 1999), and another is a migrant population inhabiting south-western United States (Fleming et al., 1993). Along the western coast of Mexico, the Chamela population is part residential showing altitudinal movements, and part migratory reproducing in Chamela but giving birth in the north (Ceballos et al., 1997; Stoner et al., 2003). Genetic data obtained in this study support this ecological hypothesis; however, more conclusive data are required to confirm this separation.

The presence of a differentiated population of *L. curasoae* in south-central Mexico is reinforced by additional evidence. A pattern of altitudinal movements of this bat was inferred using recapture records of marked animals among different sites located in

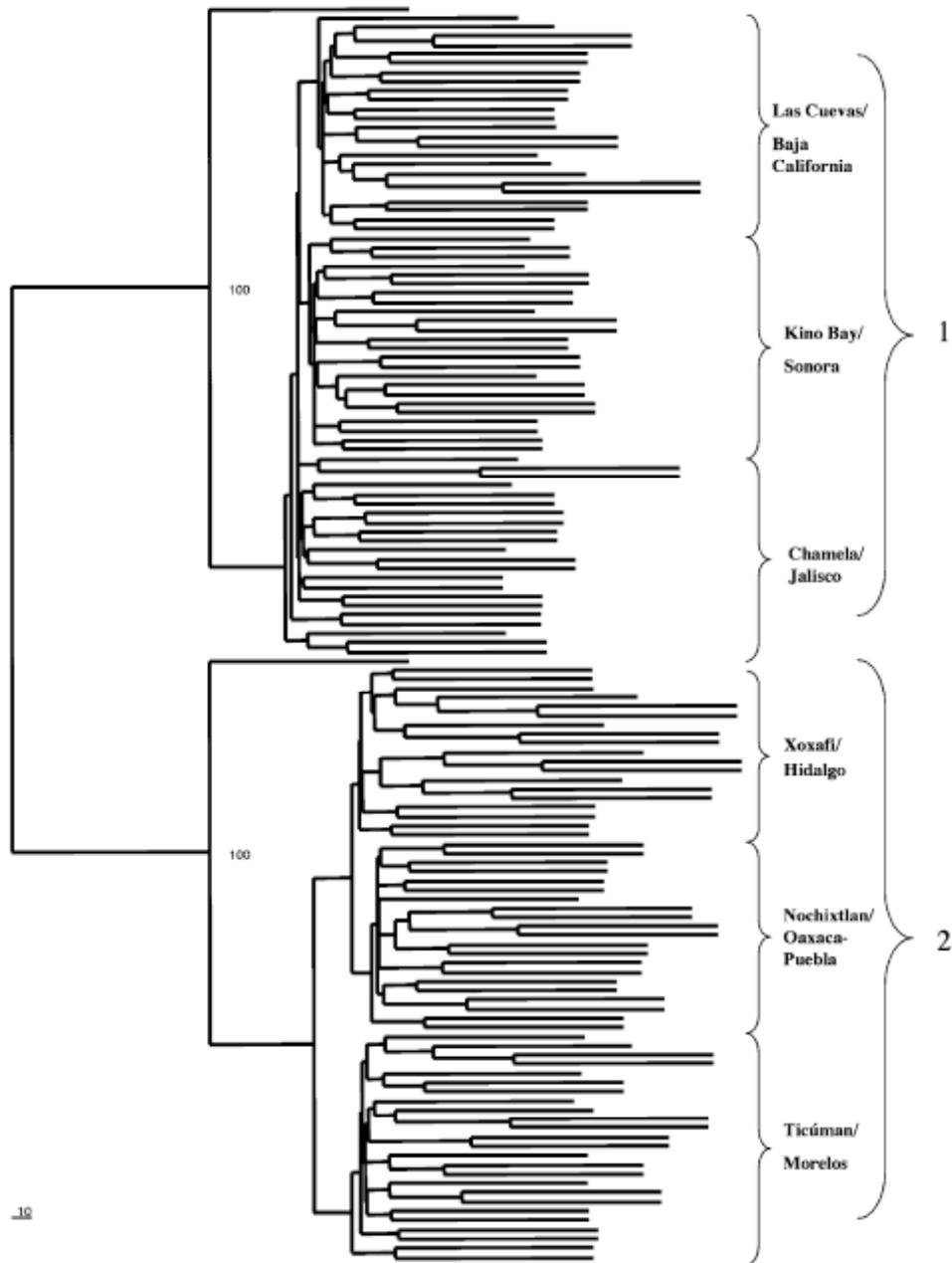


Fig. 2. UPGMA clustering of 137 individuals of *L. curasoae*. Number in the first node indicates bootstrap probabilities after 100 repeated samples: (1) north-western sites: Las Cuevas/ Baja California, Kino Bay/ Sonora, Chamela/ Jalisco; and (2) south-central sites: Ticúman/ Morelos, Nochixtlan/ Oaxaca, Xoxafi/ Hidalgo.

south-central caves (Rojas-Martínez, 2001; Galindo et al., 2004), and reports using carbon stable isotopes (Herrera, 1997).

The resident *L. curasoae* population of Baja California reported by Woloszyn and Woloszyn (1982) suggests a genetic exchange with the populations of Sonora and Jalisco. This pattern supports a recent analysis of the genetic structure of the bat pollinated *Agave deserti*, a species distributed in Sonora, Baja California and adjacent islands, which shows high levels of gene flow between continental, island and peninsular populations (Navarro-Quezada et al., 2003). *A. deserti* gene flow can be correlated with the movements of the bats at the northern population, allowing gene flow of the plants through pollination. This result is also consistent with the behavior of commuting between islands and continent (Tiburón Island and Kino Bay) to obtain resources reported by Horner et al. (1998).

The pattern described here can also be the result of the two different nectar corridors used by *L. curasoae* (Fleming et al., 1993; Wilkinson and Fleming, 1996) that have caused differentiation between bat populations inhabiting western Mexico and south-western United States with those using inland deserts. Krebs and Tibbitts (2005) tracked one tagged *L. curasoae* from south-western edge of Arizona to inland desert, which suggests coastal-inland migrations. The extent of this migration has to be addressed before conclusions can be made about the separation of the populations related to the separation of nectar corridors.

The lower gene flow found between south-central and north-western populations can have two explanations; either breeding contact is less frequent per se due to low migration rates between inland populations, or differences in population size between central and northern populations account for the low values in gene flow.

Petit et al. (1999) considered that when individuals cross an ecological barrier towards less suitable habitats, the crossing might lead to lower survival rates and less reproductive success. The data presented here supports the dictum that higher genetic variability are situated in the areas with better ecological conditions for the species. In central Mexico, nectar and pollen resources are available throughout the year (Villaseñor et al., 1990; Valiente-Banuet et al., 1996a, b, 1997a, 2002; Rojas-Martínez et al., 1999) while resources are only seasonally available in the south-western United States. This resource availability may lead to increased reproduction and population size, and consequently, higher levels of genetic variability.

Polymorphisms presented in this study are intermediate if compared with others reports for bats (MacCracken and Gassel, 1997) (0.41–0.14), and Rossiter et al. (2000) (1.000–0.833)). The polymorphism levels depend on many factors including the ecological conditions of the environment where the species are living or moving towards. However, as sample sizes are different among the cited studies, this comparison has to be taken with caution.

Our findings highlight the existence of two different behaviors among the populations of the nectar-feeding bat *L. curasoae*, reflecting differences in the levels of gene flow among them. Patterns of nectar feeding have shaped three different populations of *L. curasoae*. The population in central Mexico is mainly composed of resident individuals that move locally over the year. The Chamela population, consists of both residents that breed and have their offspring in Chamela move locally along the year in search of feeding resources, and also migrants that breed in Chamela and have their offspring in northern Mexico. Finally, the third population determined by nectar feeding patterns resides in the south-western United States and north-western Mexico, giving birth locally and also presenting seasonal latitudinal and altitudinal movements.

We observed higher genetic variability in the central population than in the north-western population, which may be the result of a large breeding population in a more stable environment with larger reproductive outputs (Valiente-Banuet et al., 1996a, b, 1997a, b; Petit et al., 1999; Petit and Mayer, 2000). However, more detailed genetic studies are needed to confirm the causes and results of this pattern.

Considerable conservation efforts have been already made mainly to preserve the nectar corridors used by this species and their maternity roosts in the north of Mexico (Fleming et al., 1993; Nabhan and Fleming, 1993). Taking into account both resident populations and migrant populations, conservation efforts must include the protection of resident roosts in the tropics as well as breeding and non-breeding roosts in all of *L. curasoae* distribution (Stoner et al., 2003).

Acknowledgments

Financial support was provided by DGAPA-PAPIIT projects No. IN209501 to MCA, and IN-208301 to AV-B, and PAPCA-2003 to MCA and JC; DGEP research scholarship to MRM-G, CONACyT scholarship to MRM-G, INE-SEMARNAT provided the licenses for the capture of the bats. We also want to give a special thanks to Dr. Rojas-Martinez and Dr. Woloszyn, who kindly provided information on some of the localities visited during this study. We wish to thank Amanda Ng from the University of Montana for the review of a previous version of this paper.

References

- Álvarez, T., González, L.Q., 1970. Análisis polínico del contenido gástrico de murciélagos Glossophaginae en México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas México* 18, 137–165.
- Álvarez, T., Sánchez-Casas, N., Ocaña, A., 1998. La mastofauna de la región de Ticúman, Morelos, México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas México* 43 (1–4), 51–66.
- Álvarez, T., Sánchez-Casas, N., Villalpando, J.A., 1999. Registro de los movimientos de *Leptonycteris curasoae yerbabuena* en el centro de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas México* 45, 9–15.
- Allnutt, T.R., Newton, A.C., Prenoli, A., Apresto, J.J., Vergara, R., Gardner, M., 1999. Genetic Variation in *Fitzroya cupressoides* (alerce) a threatened South American conifer. *Molecular Ecology* 8, 975–987.
- Arita, H.T., 1991. Spatial segregation in long-nosed bats, *Leptonycteris curasoae*, in Mexico. *Journal of Mammalogy* 72, 706–714.
- Barbour, R.W., Davis, W.H., 1969. *Bats of America*. University of Kentucky Press, Lexington, Kentucky.
- Black, W., 1993. Use of genetic polymorphism detected by the random-amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for differentiation and identification of *Aedes aegypti* subspecies and populations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 47, 893–901.
- Ceballos, G., Fleming, T.H., Chávez, C., Nassar, J., 1997. Population dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal of Mammalogy* 78, 1220–1230.
- Chakraborty, R., Leimar, O., 1987. Genetic variation within a subdivided population. In: Ryman, N., Utter, F. (Eds.), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, pp. 89–120.
- Cockrum, E.L., 1991. Seasonal distribution of northwestern populations of the long nosed bats family Phyllostomidae. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México Ser Zoología* 62, 181–202.
- Crow, J.F., Aoki, K., 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 81, 6073–6077.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131, 479–491.
- Felsenstein, J., 2004. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.6b. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle Distributed by the Author.

- Fleming, T.H., Nunez, R.A., Stenberg, L.S.L., 1993. Seasonal changes in the diets of migrants and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. *Oecologia* 94, 72–75.
- Galindo, C.G., Sánchez, Q.A., Quijano, H.R., Herrera, M.L.G., 2004. Population dynamics of a resident colony of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in central México. *Biotropica* 36 (328–391).
- Hedrick, P.W., 1983. Genetics of populations. Science Books International, USA.
- Herrera, M.L., 1997. Evidence of the altitudinal movements of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in central Mexico. *Revista Mexicana de Mastozoología* 2, 116–119.
- Horner, M.A., Fleming, T.H., Sahley, C.T., 1998. Foraging behavior and energetic of a nectar feeding bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Zoology, London* 244, 575–586.
- Howell, D.J., 1979. Flock foraging in nectar-feeding bats: advantages to the plants and the host-plants. *American Naturalist* 114, 23–49.
- Krebs, K., Tibbitts, T., 2005. Understanding the fall migration of the endangered Lesser Long Nosed Bat (*Leptonycteris curasoae*) an extension of the Arizona-Sonoran desert Museum's migratory pollinator project. http://www.desertmuseum.org/science/Final_Rpt_Leptos04.pdf
- Koopman, K.F., 1981. The distributional patterns of new world nectar feeding bats. *Annals of the Missouri Botanical Gardens* 68, 352–369.
- Livinson, J.A., Taylor, G.R., 1992. PCR in genetics diagnosis. In: McPherson, M.J., Quirke, P.Y., Taylor, G.R. (Eds.), *A Practical Approach*. The Practical Approach Series. Oxford University Press, New York, pp. 215–239.
- Manly, B.F.J., 1997. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*. Chapman Hall, London, UK.
- MacCracken, G.F., Gassel, M.F., 1997. Genetic structure in migratory and nonmigratory populations of Brazilian free-tailed bats. *Journal of Mammalogy* 78, 348–357.
- Nabhan, G.P., Fleming, T., 1993. The conservation of new world mutualism. *Conservation Biology* 7, 457–459.
- Navarro-Quezada, A., González-Chauvet, R., Molina-Freaner, F., Eguarte, L.E., 2003. Genetic differentiation in the *Agave deserti* (Agavaceae) complex of the Sonoran desert. *Heredity* 90, 220–227.
- Nei, M., Li, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76, 5269–5273.
- Pérez, T., Albornoz, J., Domínguez, A., 1998. An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. *Molecular Ecology* 7, 1347–1357.
- Petit, E., Excoffier, L., Mayer, F., 1999. No evidence of bottleneck in the post-glacial recolonization of Europe by the noctule bat (*Nyctalus noctula*). *Evolution* 53, 1247–1258.
- Petit, E., Mayer, F., 2000. A population genetic analysis of migration: the case of the noctule bat (*Nyctalus noctula*). *Molecular Ecology* 9, 683–690.
- Phillips, C.J., Pumo, D.E., Genoways, H.H., Ray, P.E., Briskey, C.A., 1991. Mitochondrial DNA evolution and phylogeography in two neotropical bats, *Artibeus jamaicensis* and *Artibeus lituratus*. In: Mares, M.A., Schmidley, D.J. (Eds.), *Latin American Mammalogy: History, Biodiversity and Conservation*. University of Oklahoma Press, Norman, OK, pp. 97–123.
- Rojas-Martínez, A., Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Alcántara-Egúren, A., Arita, H., 1999. Seasonal permanence of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in North America: does a generalized migration pattern really exist? *Journal of Biogeography* 26, 1065–1070.
- Rojas-Martínez, A., 2001. Determinación de los movimientos altitudinales estacionales de tres especies de murciélagos nectarívoros (Phyllostomidae: Glossophaginae) en el valle de Tehuacán y la cuenca del Balsas, México. Ph.D. Thesis, UNAM, México.
- Rossiter, S.J., Jones, G., Ransome, R.D., Barrat, E.M., 2000. Genetic variation and population structure in the endangered greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. *Molecular Ecology* 9, 1131–1135.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México, pp. 432.
- Sambrook, E., Fritsch, T.M., 1989. *Molecular Cloning A Laboratory Annual*, second ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (Appendix 3).
- SEDESOL, 1994. Norma oficial mexicana. NOM-059-ECOL-1994. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y establece especificaciones para su protección. Diario oficial de la Federación, Organismo del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, CDLXXXVIII, No. 10.
- SEMARNAT, 2000. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-ECOL-2000. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a

- protección especial y establece especificaciones para su protección. Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, CDLXXXVIII, No. 11.
- Seutin, G., White, B.N., Boag, P.T., 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analysis. *Canadian Journal of Zoology* 69, 82–90.
- Sneath, P.H., Sokal, R.R.A., 1973. *Numerical Taxonomy: the Principles and Practice of Numerical Classification*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Sork, L., Nason, J., Campbell, D.R., Fernandez, J.F., 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 219–224.
- Stoner, K.E., Karla, A., Salazar, O., Roxana, C., Fernández, R., Quezada, M., 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 12, 357–373.
- Takahata, N., 1983. Gene identity and genetic differentiation of populations in the finite island model. *Genetics* 104, 497–512.
- Takahata, N., Nei, M., 1984. FST and GST statistics in the finite island model. *Genetics* 107, 501–504.
- Upton, R., Wenzel, W., Friedt, W., Donakson, G., Ayisi, K., Ordon, F., 2003. Comparative analysis on the genetic relatedness of Sorghum bicolor accessions from Southern Africa by RAPDs, AFLPs and SSRs. *Theoretical and Applied Genetics* 106, 1316–1325.
- USFWS, 1986. *Endangered and threatened wildlife and plant*. Department of Interior United States, Fish and Wildlife Service, Washington, DC.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A., 1996a. Nectar-feeding bats in columnar cacti forest of central Mexico. *Bats* 14, 12–15.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A., Domínguez-Canseco, L., 1996b. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12, 103–119.
- Valiente-Banuet, A., Rojas-Martínez, A., Arizmendi, M.C., Davila, P., 1997a. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbania mezcalaensis* and *Neobuxbania macrocephala*) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *American Journal of Botany* 84, 452–455.
- Valiente-Banuet, A., Rojas-Martínez, A., Casas, A., Arizmendi, M.C., Davila, P., 1997b. Pollination ecology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments* 37, 331–341.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A., Casas, A., Godínez-Alvarez, H., Silva, C., Dávila-Aranda, P., 2002. Biotic interactions and population dynamics of columnar cacti. In: Fleming, T.H., Valiente-Banuet, A. (Eds.), *Columnar cacti and their mutualists, evolution, ecology and conservation*. University of Arizona Press, USA.
- Villaseñor, J.L., Davila, P., Chiang, F., 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 50, 135–149.
- Wilkinson, G.S., Fleming, T.H., 1996. Migration and evolution of the lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology* 5, 329–339.
- Woloszyn, D., Woloszyn, D.D., 1982. *Los mamíferos de la Sierra de la Laguna, Baja California Sur*. CONACYT. México.

III. CAPÍTULO 3. Diferenciación genética en el murciélago hocicudo menor *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae).

Resumen

Leptonycteris curasoae es una especie de murciélago migratorio que poliniza algunas especies de cactus y agaves. Se reconocen dos subespecies *L. c. yerbabuena* que se distribuye desde el suroeste de los E. U. A. hasta el Salvador y *L. c. curasoae* que se distribuye en el norte de Colombia, Venezuela y algunas Islas del Caribe. Utilizando secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA) analizamos la relación genética presente entre las poblaciones de Suramérica y de Norteamérica, así como la relación entre las poblaciones mexicanas, para clarificar la posición taxonómica del grupo. De igual forma analizamos la relación que existe entre los grupos de *L. c. yerbabuena* en México. Se encontró que *L. c. yerbabuena* tiene 38 sitios polimórficos, mientras que *L. c. curasoae* tiene 11 sitios polimórficos. Entre las poblaciones de Suramérica y de Norteamérica hay una clara estructuración genética significativa ($F_{st} = 0.750$) con una relación positiva al aislamiento por distancia ($r = 0.837$ $P = 0.00012$). La prueba de AMOVA sugiere estructuración genética entre Norte y Suramérica ($V_a = 75.02\%$, $V_b = 24.98\%$). Asimismo, en México la especie presenta una estructuración genética ($F_{st} = 0.078$) con una correlación baja al aislamiento por distancia ($r = 0.046$, $p = 0.0001$). Sin embargo, el aislamiento por distancia se evidencia aún más al analizar los extremos de la distribución ($r = 0.728$, $P = 0.001$). Los resultados sugieren la existencia de dos unidades evolutivas independientes, por lo que se sugiere que ambas subespecies de *L. curasoae* sean consideradas como especies distintas, *L. yerbabuena* para el grupo correspondiente a Norteamérica y *L. curasoae* para el grupo correspondiente a Suramérica. Para las poblaciones de México se encontró una relación de aislamiento por distancia, encontrándose dos grupos diferentes de esta especie de murciélago, que se distribuyen a lo largo de México, llegando hasta el suroeste de los E. U. A.

III. I Introducción

En América existen varias especies de murciélagos nectarívoros, los cuales pertenecen a la familia de microquirópteros *Filostomidae*. Esta familia es endémica de América y es la más grande de entre los murciélagos, reconociéndose 49 géneros y 140 especies (Wetterer *et al.*, 2000). Aproximadamente 18 especies de estos murciélagos se alimentan de cactus o sus derivados (Simons y Wetterer, 2002).

Leptonycteris curasoae es una especie que se distribuye de manera disyunta desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el Salvador y hacia la parte norte de Colombia, Venezuela y algunas Islas de Caribe como Curazao e Isla Margarita, sin que existan registros en América central (Arita, 1991; Arita y Humphrey, 1988; Cockrum, 1991). Se han reconocido dos subespecies distintas para esta especie: *L. c. yerbabuena* (Martínez y Villa, 1940) distribuido en la parte sur de Norteamérica y *L. c. curasoae* (Miller, 1900) que se distribuye en la parte norte de Suramérica (Arita y Humphrey, 1988). En Norteamérica la subespecie *L. c. yerbabuena* se puede distinguir de *L. nivalis* (siendo esta la única otra especie perteneciente al mismo género), porque presenta pelaje dorsal corto y áspero con coloración café claro. Su uropatagio está reducido a una membrana angosta sin fleco de pelos en el borde y sus alas son generalmente más pequeñas que las de *L. nivalis*, al igual que la tercer falange del tercer dedo (Arita y Humphrey, 1988; Medellín *et al.*, 1997). Davis y Carter (1962) proponen que las dos subespecies pueden distinguirse principalmente por diferencias a nivel craneal y de la dentición. *L. c. curasoae* presenta un mayor tamaño craneal que *L. c. yerbabuena*, además los dientes de *L. c. curasoae* presentan una distribución simétrica diferente a la distribución en pares que presentan los dientes de *L. c. yerbabuena* (Davis y Carter, 1962).

En Norteamérica esta especie ha sido considerada como migratoria en la parte norte de su rango de distribución (Arita, 1991; Barbour y Davis, 1969; Cockrum, 1991; Fleming *et al.*, 1993; Howell, 1979; Koopman, 1981) y residente en el sur de ésta (Morales-Garza *et al.*, 2007; Rojas-Martínez *et al.*, 1999; Valiente-Banuet *et al.*, 1996). En Suramérica Soriano *et al.* (2000) mencionan que no es un migratorio *sensu stricto* debido a su presencia constante

en la región costera, sin embargo, sugieren que en los enclaves andinos se desplaza hacia otras áreas durante el período de partos y lactancia, con lo cual podría considerarse como migratoria. Soriano y Ruiz (2002), así como Petit (1997) han sugerido que *L. curasoe* se mueve entre los enclaves áridos que se encuentran entre Venezuela y Colombia, así como en algunas Islas del Caribe como Curacao y Margarita donde se le puede encontrar en varios refugios. En esta zona *L. curasoe* se mueve de forma dependiente al recurso que consume, encontrándose en los diferentes enclaves durante la época de floración de los cactus de los cuales se alimenta. Por ejemplo, en la península de Paraguaná, se observa una decremento de sus poblaciones cuando el recurso floral disminuye durante los meses de septiembre-abril, en Lagunillas se le puede encontrar durante los meses de agosto-abril, en Chicamocha se le puede encontrar durante los meses de agosto-marzo (Soriano y Ruiz, 2002).

Esta especie, tanto en Norteamérica como en Suramérica, presenta una relación mutualista con varias especies de cactáceas (Álvarez y González, 1970; Arita, 1991; Soriano y Ruiz, 2002; Valiente-Banuet *et al.*, 1996) y algunas especies de agaves en Norteamérica, llegando esta relación a comprender más de 70 especies de plantas (Howell y Roth, 1981; Howell, 1979). En Norteamérica esta relación es importante por los recursos que se derivan de ella, mismos que son aprovechados por una parte de la población rural como el autoconsumo y venta de los frutos, así como la producción de licores y fibras entre otros (Reyes *et al.*, 2004). Los productos derivados de esta relación significan ingresos mayores a los 80,000 pesos en una buena cosecha de frutos de *Stenocereus queretaroensis* (Iñiguez comunicación personal; Casas *et al.*, 1999a; Casas *et al.*, 1999b; Cervantes, 2002).

L. curasoe es una especie considerada como amenazada, y esta incluida en los listados de especies protegidas tanto en Estados Unidos como en México (NOM-ECOL-059-1994, 2000; USFWS, 1986) debido a la disminución en las poblaciones que se encuentran hacia la parte norte de su distribución en Norteamérica (Howell y Roth, 1981).

En Norteamérica esta especie ha sufrido varios cambios de nomenclatura lo cual dificulta su estudio, ya que la información referente a la especie se puede encontrar bajo varios

sinónimos (*L. curasoe* = *L. sanborni*, *L. yerbabuena*) (Arita y Humphrey, 1988; Davis y Carter, 1962; Martínez y Villa, 1940; Simons y Wetterer, 2002). Arita y Humphrey (1988) realizaron una exhaustiva revisión taxonómica del género *Leptonycteris* en un esfuerzo por definir claramente la nomenclatura adecuada para éste género, aceptando que existen dos subespecies para la especie *curasoe* en el continente americano; *L. c. yerbabuena* para las poblaciones de Norteamérica y *L. c. curasoe* para las poblaciones de Suramérica. Sin embargo, la discusión taxonómica sobre éste género de murciélago aún no termina, ya que las distancias geográficas a las que se encuentran las dos subespecies de *L. curasoe* forman una barrera geográfica que resulta en un aislamiento reproductivo que se traduce en la interrupción del flujo génico. Siendo el flujo génico dentro y entre las poblaciones un proceso clave para el mantenimiento de la estructura genética en las mismas. Al detenerse éste flujo génico, la deriva génica, así como otros procesos microevolutivos, pueden propiciar su diferenciación, lo cual llevaría a la especiación. En *L. curasoe* tendríamos entonces un proceso de especiación alopátrica, donde las especies serían el resultado de un aislamiento geográfico y reproductivo (Mayr, 1976; Ridley, 1993; Primack, 1998).

En un trabajo previo realizado por Wilkinson y Fleming (1996), encontraron haplotipos similares entre varios puntos geográficos en Norteamérica, sugiriendo que pudieran estar conectados por la migración de la especie en las costas del Pacífico, y que pudieran estar utilizando dos rutas para llevar a cabo esta migración. De igual forma utilizaron datos de un sitio de colecta en Venezuela, encontrando que las diferencias a nivel haplotípico, demuestran una separación de las subespecies hace 0.54 millones de años. Sin embargo, en ese trabajo las diferencias haplotípicas encontradas entre las muestras de Norteamérica y Suramérica no fueron consideradas para elevar taxonómicamente a las subespecies de *L. curasoe*. Tampoco se muestreó la zona centro-sur de Norteamérica, específicamente los estados de Puebla, Oaxaca, Hidalgo, Morelos, Guanajuato y Tamaulipas. El análisis de estos estados de la República Mexicana donde también se encuentra a *L. curasoe* representa puntos clave para comprender la biología de la especie.

Con el propósito de determinar si las dos subespecies descritas de *L. curasoe* pueden ser consideradas como especies separadas utilizamos datos de secuencias mitocondriales

(obtenidos en el campo y de la literatura Wilkinson y Fleming (1996), Newton *et al.* (2003)) para comparar los dos sitios geográficos con sus respectivas subespecies y discutir la utilización de la nomenclatura actual determinando los niveles de flujo génico entre y dentro de las poblaciones.

En el campo de la genética de la conservación el marcador más ampliamente utilizado es el DNA mitocondrial (mtDNA) (Moritz, 1994a; Moritz, 1994b; Solórzano, 2003). Este marcador es una herramienta de gran utilidad por sus características intrínsecas para probar si entre las subespecies del género *Leptonycteris* existen suficientes diferencias para sugerir un proceso de especiación alopátrica, ya que el mtDNA se hereda de forma materna y no sufre recombinación con ADN paterno (Avice *et al.*, 1987) mostrando así, la historia evolutiva de la población a la que pertenece (Avice 2000; Puerto *et al.*, 2001).

Así mismo, Moritz (1994a, 1994b) propone que el mtDNA es una herramienta útil para la identificación de unidades prioritarias para la conservación dentro de las especies, denominadas como Unidades Significativas Evolutivas (ESU's, por sus siglas en inglés Evolutive Significant Units), así como las Unidades de Manejo (MU's, por sus siglas en inglés Managment Units). Las ESU's representan así poblaciones genéticamente diferenciadas que pueden ocupar nichos diferentes y presentar a su vez adaptaciones locales, esto supone un aislamiento histórico que ha conducido a su diferenciación local.

Como hipótesis nosotros suponemos que las subespecies de *L. curasoae* (*L. c. yerbabuenae* y *L. c. curasoae* respectivamente) son especies distintas y podrían determinarse como ESU's diferentes, de esta forma se tendrá información que complemente los estudios taxonómicos previos y sitúe a los grupos en el orden correspondiente. En México esperamos encontrar una estructuración similar a la reportada por Morales-Garza *et al.* (2007).

III. II Materiales y Métodos

Toma de la muestra, extracción y amplificación del DNA mitocondrial.

Se visitaron 10 sitios en México (Fig 1, Cuadro 1). En estos sitios se realizó la captura de murciélagos de la especie *Leptonycteris curasoae yerbabuena* así como de algunos ejemplares de *L. nivalis*. Las dos especies fueron identificadas utilizando la clave de campo “Identificación de los Murciélagos de México” (Medellin *et al.*, 1997). De cada individuo se tomó una pequeña biopsia de tejido del uropatagio -10mm- siguiendo la técnica propuesta por Wilkinson y Fleming (1996). Las muestras de *L. nivalis* se utilizaron como grupo externo. Los tejidos colectados en campo se conservaron en solución de DMSO al 20% de acuerdo a Seutin *et al.* (1991). Posteriormente, se trasladaron las muestras al laboratorio y se guardaron en un ultra congelador REVCO a -70° C (Morales-Garza *et al.*, 2007).

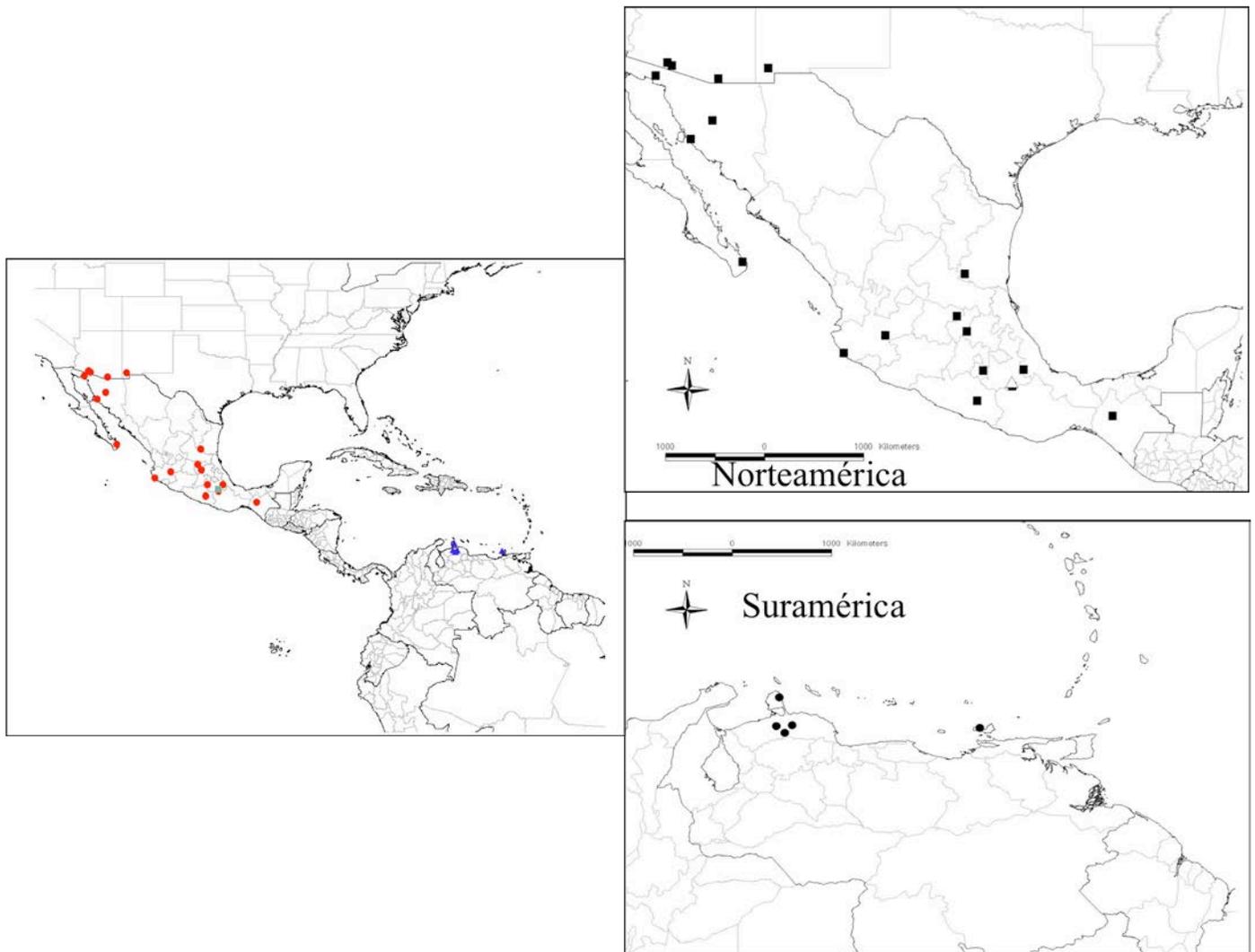


Fig. 1. Mapa de distribución de especies pertenecientes al género *Leptonycteris* modificado de Arita y Humphrey (1988). Con un círculo se muestran los sitios de distribución de *Leptonycteris curasoae curasoae* georeferenciados para el análisis (abajo a la derecha en Suramérica). El cuadro indica los sitios muestreados de *L. c. yerbebuena* y en un triángulo se muestra el sitio de colecta de *L. nivalis* (arriba a la derecha en Norteamérica). El punto de colecta de *L. nivalis* se encuentra próximo a la localidad de Nochixtlán por lo que se ve un solapamiento en el mapa.

Cuadro 1. Se señalan el número de secuencias obtenidas para *L. c. yerbabuena* y *L. nivalis*+, así como la georeferencia de cada uno de ellos, y el tipo de vegetación.

Población muestreada	Estado de la República Mexicana	N(39)	Posición	Altitud* (m.s.n.m.)	Tipo de Vegetación***	Referencia
Nochixtlán	Oaxaca	4	18°05' N 97°37' W	1978	Matorral xerófilo	Rojas-Martínez <i>et al.</i> , 1999; Rzedowski, 1978
Xoxafí	Hidalgo	4	20°29' N 99°38' W	2000	Bosque esclerófilo siempre verde	Álvarez <i>et al.</i> , 1999; Rzedowski, 1978
Ticumán	Morelos	4	18°46' N 98°55' W	1300	Bosque tropical caducifolio	Álvarez <i>et al.</i> , 1999; Álvarez <i>et al.</i> , 1998
Chamela	Jalisco	4	19°32' N 105°07' W	150	Bosque tropical caducifolio	Stoner <i>et al.</i> , 2003; Bullock y Solis-Magallanes, 1990; Rojas-Martínez <i>et al.</i> , 1999
Bahía Kino	Sonora	5	28°53' N 111°55' W	200	Matorral xerófilo	Rojas-Martínez <i>et al.</i> , 1999
Las Cuevas	Baja California Sur	4	23°31' N 109°37' W	100	Matorral xerófilo	Woloszyn y Woloszyn, 1982
Tula	Tamaulipas	4	22°59' N 99°43' W	1047	Matorral xerófilo	
El Copudo	Guanajuato	3	21°08' N 100°04' W	1876	Matorral carsicaule	Castillo, 2003
Los Laguitos	Chiapas	5	16°47' N 93°09' W	730	Selva baja caducifolia	Téllez, 2001
Tilapa	Veracruz	1	18°48' N 97°06' W	NP**		
San Juan Raya+	Puebla	8	18°17' N 97°37' W	1735	Matorral xerófilo	

N = número de secuencias obtenidas por sitio.

* m.s.n.m. = metros sobre nivel del mar.

** NP = No Proporcionada

*** Vegetación tomada de la referencia correspondiente al sitio de colecta visitado

El DNA se extrajo con columnas DNeasy™ tissue kit (Qiagen™) según las especificaciones del fabricante.

La amplificación del D-Loop del mtDNA se realizó utilizando dos primers de 22 pares de bases cada uno: tRNA_{proP} (5' TCCTACCATCAGCACCCAAAGC 3') que comienza en la posición 15975 de la prolinea humana y el primer CSB-F (5' GTTGCTGGTTTCACGGAGGTAG 3') que termina en la posición 16425 del bloque conservado en medio de la región control (Wilkinson y Fleming, 1996). Este proceso se llevó a cabo en un termociclador GeneAmp PCR programado a 40 ciclos por 1min, a 95 °C para la desnaturalización, 1.5min a 55 °C para la alineación y finalmente 2 min. a 72 °C para la polimerización. La reacción de PCR para obtener las secuencias se realizó con ambos primers por separado, de esta forma se obtuvieron las secuencias en ambos sentidos de la cadena del DNA. Posteriormente, se empalmaron y utilizaron para el análisis final. Los fragmentos obtenidos por medio de la amplificación de PCR se purificaron con columnas de sephadex (CentriprepTM) o con el protocolo de ExoSAP-IT (USB Corporation 2000). La secuenciación de los fragmentos del mtDNA obtenido se realizó siguiendo el protocolo de Applied Biosystem en un secuenciador automático de 16 capilares Applied Biosystem 3100 Genetic Analyzer (FES-Iztacala UBIPRO). Una vez obtenidas las secuencias correspondientes al muestreo realizado en México se revisó cuidadosamente cada una con su electroferograma utilizando el programa EditView 1.0.1. Posteriormente, se compararon con las secuencias reportadas en el GeneBank y en la literatura.

Del GeneBank se obtuvieron algunas de las secuencias reportadas por Newton *et al.* (2003) con los siguientes números de acceso: AF510550, AF510551, AF510552, AF510554, AF510555, AF510556, AF510557, AF510558, AF510559, AF510560, AF510562 y AF510563. Estas secuencias corresponden a la parte norte de Suramérica de la distribución de *L. c. curasoe* (Arita y Humphrey, 1988). También se utilizaron las secuencias que corresponden a la subespecie *L. c. yerbabuena* reportadas por Wilkinson y Fleming (1996). Esto se realizó con el fin de tener la mayor cantidad de secuencias posibles de todo el rango geográfico de la especie, tanto para la parte norte como para la parte sur y poder hacer una comparación más amplia.

Las secuencias del mtDNA, tanto las reportadas en el GeneBank, como las reportadas en la literatura y las obtenidas en este trabajo se alinearon utilizando el programa Clustal W que esta incluido en el paquete estadístico MEGA (Kumar *et al.*, 1993).

III. III Análisis estadístico

Se realizó la prueba D de Tajima (Tajima, 1989) para determinar si el fragmento que se está analizando cumple con el supuesto de neutralidad evolutiva para poder construir un filograma confiable utilizando el paquete estadístico DNAsp (Rozas *et al.*, 2003). Se subdividieron las secuencias en regiones geográficas para compararlas entre sí. Las regiones geográficas que se definieron son: Suramérica con las secuencias obtenidas del GeneBank (Newton *et al.*, 2003) y Norteamérica con las secuencias obtenidas en este trabajo y las reportadas por Wilkinson y Fleming (1996).

Se construyeron dos árboles con las distancias de Neighbor Joining de las relaciones filogenéticas de los individuos usando el programa MEGA (Kumar *et al.*, 1993). Estos árboles se construyeron usando el parámetro 2 de Kimura (Kimura, 1980) con un bootstrap de 2000 iteraciones. De esta forma se obtuvieron los filogramas que describen las relaciones entre los individuos analizados.

Para describir los diferentes filogramas y enraizarlos se utilizó una secuencia obtenida del GeneBank como grupo externo. La secuencia pertenece a un individuo de *Glossophaga soricina* con número de acceso del GeneBank AF510526. De igual forma se obtuvieron 8 secuencias de *L. nivalis* provenientes de individuos capturados en San Juan Raya Puebla (Cuadro 1). Estas dos especies funcionaron como grupos externos para nuestro análisis. Además, *L. nivalis* fue comparado con las subespecies de *L. curasoeae*.

Para determinar el contacto génico entre las dos zonas geográficas definidas anteriormente y aportar más información referente a la taxonomía del grupo, se calculó la F_{st} y el valor de $N_e m$ según Hudson *et al.* (1992) aplicando la prueba con el paquete estadístico DNAsp (Rozas *et al.*, 2003).

Posteriormente, se correlacionaron las distancias genéticas contra las distancias geográficas de los individuos muestreados y los individuos recuperados del GeneBank (para Suramérica sólo se utilizaron las secuencias que se pudieron correlacionar a un sólo punto geográfico, para más detalles ver Newton *et al.*, 2003), así como de las secuencias obtenidas de las referencias (Wilkinson y Fleming, 1996). Esto se hizo construyendo una matriz de distancias genéticas que se correlacionaron con las distancias geográficas mediante la prueba de Mantel r (Mantel y Valand, 1970) utilizando el programa ZT en MS-DOS (Bonnet y Van de Peer, 2002). La correlación se hizo entre las zonas que comprenden a los individuos de Suramérica contra los de Norteamérica. También se aplicó la prueba de Mantel a los extremos de la distribución en Norteamérica. De igual forma esta prueba fue utilizada para determinar si los datos de mtDNA aportan el mismo tipo de información que los datos obtenidos por Morales-Garza *et al.* (2007) de RAPD's. Esta comparación se realizó suponiendo que los datos aportados por RAPD's serían diferentes a los datos aportados por mtDNA, porque en si los datos aportados por cada una de estas técnicas aportan información diferente, los RAPD's aportan información del genoma total, esto es que comprenden la información aportada tanto por los machos como por las hembras, en cambio el mtDNA sólo aporta información perteneciente a líneas maternas. La prueba de AMOVA solamente se aplicó a las zonas de Norteamérica y Suramérica para poder observar la variación entre estos dos sitios usando el programa Arlequín 2.0 (Schneider *et al.*, 2000).

III. IV Resultados

En total se analizaron 108 secuencias con una extensión de 292 pb cada una. Se obtuvieron 17 haplotipos de *L. c. curasoe*, 46 de *L. c. yerbabuena* y 8 de *L. nivalis*. La prueba de neutralidad de Tajima no fue significativa para el total de las secuencias obtenidas ($D = -0.555$ $P > 0.10$), así como para ninguno de los grupos por separado (Cuadro 2). En el mismo cuadro se muestran los estimados de diversidad nucleotídica (π), así como la tasa de mutación (θ) y H_e virtual.

Cuadro 2. Diversidad Genética del grupo *Leptonycteris* encontrada con mtDNA.

	# de Secuencias	π	θ	Tajima	# de Haplotipos	He virtual
<i>L.c.c.</i> Ven	22	0.007	0.011	-1.287	17	0.917
				P > 0.10		
<i>L.c.y.</i> Méx.	73	0.022	0.028	-0.747	46	0.910
				P > 0.10		
<i>L.c.</i> Total	95	0.031	0.035	-0.296	63	0.946
				P > 0.10		
<i>L. nivalis</i>	8	0.013	0.012	0.242	6	0.611
				P > 0.10		

Número de secuencias, π , θ , número de haplotipos y heterocigosis virtual de *Leptonycteris curasoae curasoae* (*L.c.c.* Ven), *L. c. yerbabuena* (*L.c.y.* Mex) y *L. nivalis* obtenidos del mtDNA. Las secuencias utilizadas están compuestas por 292 nucleotidos.

El Cuadro 3 muestra los resultados de la prueba de AMOVA para cual se utilizaron únicamente las secuencias de los extremos de la distribución de *L. c. yerbabuena* (México) y *L. c. curasoae* (Venezuela), indicando que la varianza esta distribuida entre las poblaciones. Esto significa que hay mayores diferencias entre los dos grupos definidos y no dentro de cada uno de ellos, así la F_{st} (0.750) muestra que las poblaciones de México y Venezuela están estructuradas, existiendo dos grupos bien definidos. De igual forma, el resultado de la prueba de Mantel es significativo en el cual se muestra una separación por distancia geográfica entre estos dos grupos poblacionales ($r = 0.837$, $P = 0.0001$).

Cuadro 3. Componentes de la varianza obtenidos de mtDNA *Leptonycteris curasoae* (México –*yerbabuena*- vs Venezuela –*curasoae*-)

Fuente de variación	d. f.	Suma de cuadrados	Componentes de la variancia	Porcentaje de la variación
V(a) entre poblaciones	1	219.649	6.627 Va	75.02
V (b) dentro de poblaciones	94	207.371	2.206 Vb	24.98
Total	95	427.021	8.833	
Índice de fijación	F_{st} :	0.750		

En el Cuadro 4 se muestra la partición de la F_{st} entre las dos subespecies de *L. curasoae* (*yerbabuena* y *curasoae*) así como la F_{st} entre estas subespecies (que corresponde a la F_{st} mostrada en el Cuadro 3) y *L. nivalis* y contra el total de la especie *L. curasoae* (*L.c. Total*), debajo de cada valor se muestra la N_{em} correspondiente (la cual se define como el número efectivo de migrantes, lo cual implica el flujo génico entre poblaciones; Crow y Aoki, 1984; Sork *et al.*, 1999) de igual forma por arriba de la diagonal encontramos la distancia genética correspondiente para cada uno de los pares de poblaciones.

Cuadro 4. Matriz de comparación de Distancias Genéticas y valores de N_{em} entre las diferentes poblaciones.

	<i>L.c.c. Ven</i>	<i>L.c.y. Mex</i>	<i>L. c. Total</i>	<i>L. nivalis</i>
<i>L.c.c. Ven</i>	-----	0.029	0.029	0.036
<i>L.c.y. Mex</i>	0.14	-----	0.029	0.026
<i>L.c. Total</i>	0.36	6.40	-----	0.35
<i>L. nivalis</i>	0.08	0.14	0.22	-----

Debajo de la diagonal se indican los valores de N_{em} entre pares de poblaciones, por arriba de la diagonal se indican los valores de distancias genéticas entre pares de poblaciones. *Leptonycteris curasoae curasoae* = *L.c.c. Ven*, *L. c. yerbabuena* = *L.c.y. Mex*, la suma de *L. c. yerbabuena* y *L. c. curasoae* = *L. c. Total*, también esta representado *L. nivalis*.

En el Cuadro 5 se muestra la partición de F_{st} por poblaciones en México, utilizando las secuencias reportadas por Wilkinson y Fleming (1996), así como las secuencias obtenidas durante este trabajo. También se muestran los resultados de $N_e m$ para cada sitio de muestreo. La F_{st} total para las secuencias en México, incluyendo las secuencias reportadas por Wilkinson y Fleming (1996) es de 0.089 y $N_e m = 5.13$, lo que indica que *L. c. yerbabuena* presenta una menor estructuración poblacional que la encontrada entre México y Venezuela. La prueba de Mantel es significativa ($r = 0.046$, $p = 0.0001$) mostrando una baja correlación, mientras que si comparamos solamente los extremos de la distribución la correlación es mayor ($r = 0.727$, $p = 0.001$).

Cuadro 5. Flujo apareado presente en *Leptonycteris curasoae yerbabuena*.

	A	B	S	C	Mc	G	O	Ch	T	H	M	Gs
A	0											
B	6.34	0										
S	0	9.12	0									
C	0	0	0	0								
Mc	49	2.93	0	5.50	0							
G	8.25	11.95	7.75	0	1.81	0						
O	0	0	0	0	19.5	0	0					
Ch	0	0	0	0	0	0	0	0				
T	1.65	0.97	1.90	1.73	3.63	1.34	5.13	1.85	0			
H	1.64	0.98	1.29	2.45	0.87	0	1.78	1.47	0.59	0		
M	1.2	0.88	1.03	2.06	0.71	0	1.63	1.2	0.52	0	0	
Gs	0	4.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Debajo de la diagonal se muestran los valores de $N_e m$ obtenidos para *Leptonycteris curasoae yerbabuena* en México. Estos resultados se muestran por par de poblaciones. Los valores de 0 que se muestran en algunas casillas indican que no hay diferenciación en entre esas poblaciones, ($F_{st} = 0.089$, $N_e m = 5.13$).

*Arizona (A), Baja California (B), Sonora (S), Chamela (C), Michoacán (Mc), Guerrero (G), Oaxaca (O), Chiapas (Ch), Tamaulipas (T), Hidalgo (H), Morelos (M), Guanajuato (Gs).

Para determinar la relación entre los datos mitocondriales y los datos de RAPD's reportados por Morales-Garza *et al.* (2007) se aplicó una prueba de Mantel concluyendo que existe una relación entre los datos obtenidos con diferentes marcadores ($r = 0.696$, $p = 0.014$). Para obtener este resultado únicamente se compararon los sitios geográficos donde se obtuvieron datos con ambos marcadores en México.

Utilizando las distancias genéticas de las secuencias y las distancias geográficas correspondientes a cada secuencia se construyó un Filograma con las distancias de Neighbor-Joining (Fig. 2). En este filograma se observa que *L. curasoe* se divide en dos grupos principales, uno perteneciente exclusivamente a la subespecie *L. c. curasoe* de Suramérica y otro que pertenece a la subespecie *L. c. yerbabuena* de Norteamérica, este segundo grupo a su vez se divide en dos grupos más, dichos grupos que podrían interpretarse como líneas maternas se distribuyen uno y el más grande a lo largo de la costa del Pacífico desde Sonora hasta Chiapas, y el segundo grupo uno mucho más pequeño, se distribuye principalmente en la parte central de México, sugiriendo que existen dos grupos poblacionales distintos como se ha visto en los resultados obtenidos en Morales-Garza *et al.* (2007).

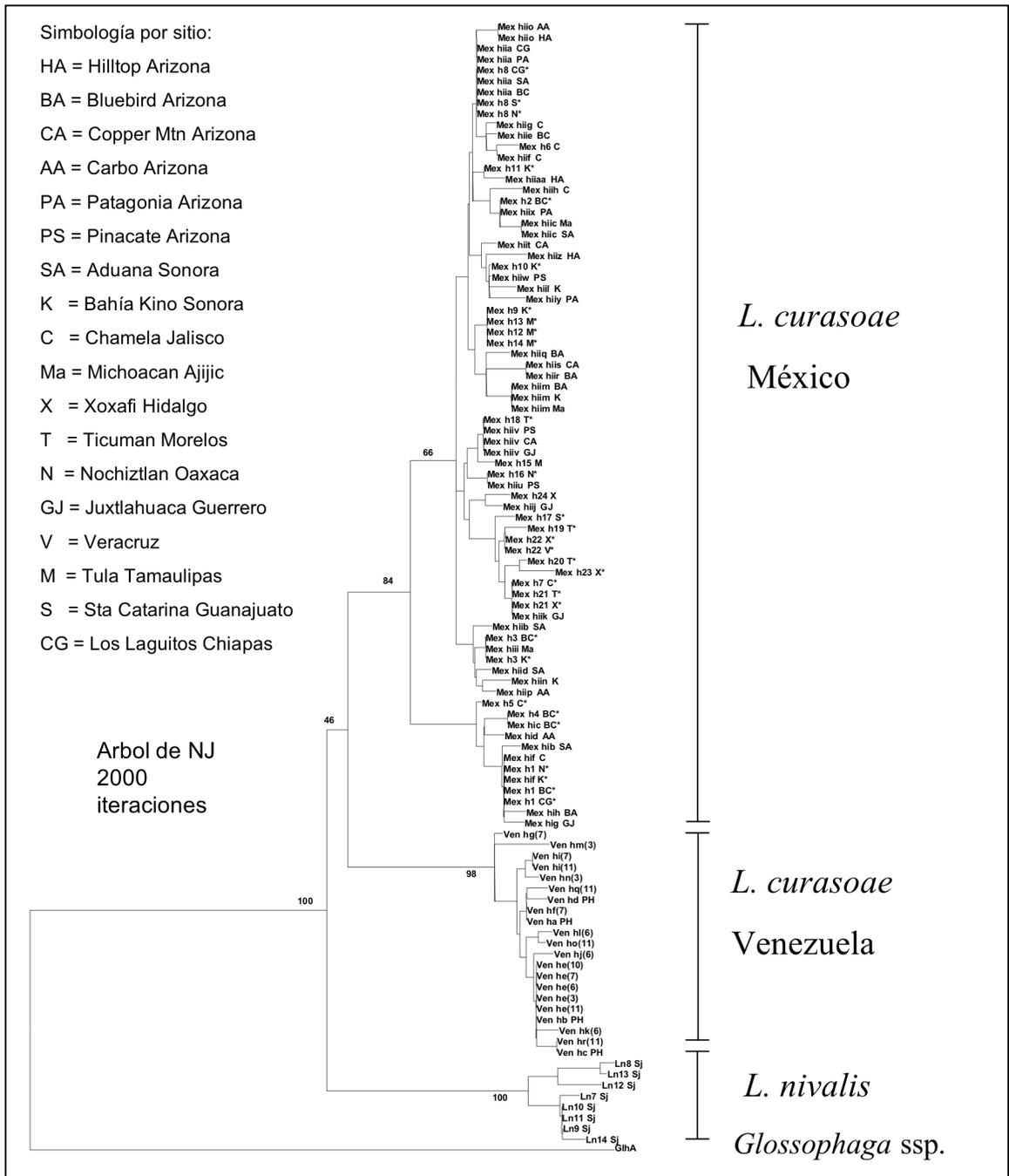


Fig. 2. Árbol construido con el método de Neighbor Joining de *L. curasoe* con sus subespecies de México (*L. c. yerbabuena*) y de Venezuela (*L. c. curasoe*). Las secuencias obtenidas durante este trabajo están marcadas con un asterisco (*). Se incorporaron las secuencias obtenidas del GeneBank de *L. curasoe* en Venezuela y las secuencias obtenidas por Wilkinson y Fleming (1996) (GJ, Ma, SA, HA, BA, CA, AA, PA, PS, K, BC). Para obtener este árbol se utilizó el método de Kimura 2 parámetros con un Bootstrap de 2000 repeticiones. *L. curasoe* de México (*yerbabuena*) y *L. curasoe* de Venezuela (*curasoe*) ($F_{st} = 0.750$, $N_e m = 0.166$; $r = 0.837$ $P = 0.0001$). En este árbol se utilizó a *Glossophaga* sp. y *L. nivalis* como grupo externo.

Para comparar y determinar si las relaciones filogenéticas son similares a las relaciones morfológicas, se utilizó el filograma descrito por Arita y Humphrey (1988; Fig. 3). Para realizar una comparación más precisa se obtuvieron las secuencias de algunos individuos pertenecientes a la especie *nivalis* del género *Leptonycteris*, que ya ha sido descrita y aceptada como una especie distinta a *L. curasoae*. Esta especie presenta una distribución similar a la de *L. c. yerbabuena* en México, entrando hacia la parte central y migrando hacia Texas en busca de los recursos que le proveen los agaves en época de floración.

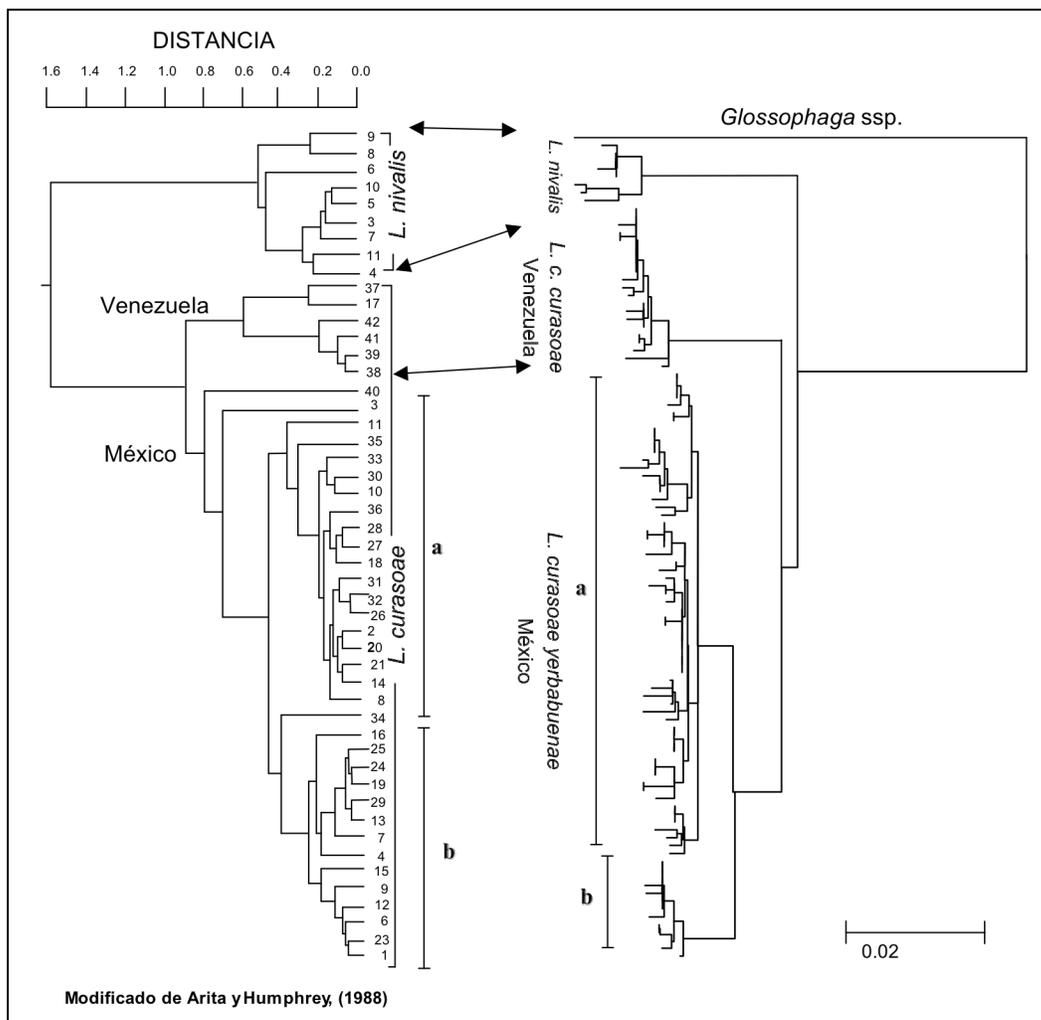


Fig. 3. Comparación entre filogramas: distancias morfológicas vs distancias genéticas. El árbol de la derecha se obtuvo con Neighbor Joining usando las secuencias pertenecientes a *L. curasoae* con sus subespecies de México (*yerbabuena*) y de Venezuela (*curasoae*). Se incorporaron las secuencias obtenidas del GeneBank y las secuencias obtenidas por Wilkinson y Fleming (1996). (Kimura 2 parámetros, bootstrap de 2000 repeticiones) El filograma que se encuentra a la izquierda fue modificado de Arita y Humphrey (1988). Las flechas indican los límites entre los grupos correspondientes. Las letras a y b indican la presencia de dos grupos dentro de México.

Comparando únicamente los filogramas (Fig. 3), se reconoce una correspondencia entre los datos de distancia genética (derecha) obtenidos en este trabajo y los datos morfológicos (izquierda) obtenidos por Arita y Humphrey (1988). Arita y Humphrey (1988) muestran en este filograma en orden descendente a *L. nivalis* y *L. curasoe*. En la rama que representa a *L. curasoe* se pueden identificar dos grupos bien definidos, el primero corresponde a *L. c. curasoe* en Venezuela y el segundo corresponde a *L. c. yerbabuena* en México respectivamente. El filograma que nosotros obtuvimos muestra en orden descendente a *G. soricina* como raíz del árbol, posteriormente a *L. nivalis* seguido de las subespecies *L. c. curasoe* (Venezuela) y a *L. c. yerbabuena* (México). También se observa la presencia de dos grupos en México que corresponden a la subespecie *L. c. yerbabuena*, estos grupos aparecen en los dos árboles presentados en la Fig. 3. Ambos grupos se designan con las letras a y b que corresponden a un linaje encontrado exclusivamente por la parte de la costa del Pacífico (b) y a otro linaje que se encuentra de igual forma por la costa del Pacífico, pero que se incorpora a la parte del centro y llega hasta las costas del Golfo de México (a).

III. V Discusión

Norteamérica vs Suramérica (especie vs subespecie)

En el trabajo realizado por Arita y Humphrey (1988) se hace una revisión taxonómica exhaustiva del género *Leptonycteris* basándose en análisis morfométricos. Arita y Humphrey (1988) ponen en duda la designación de especies para el complejo *Leptonycteris*, por lo que realizaron la comparación de sus características morfométricas, midiendo cuidadosa y rigurosamente los ejemplares presentes en las colecciones que tuvieran la designación de *Leptonycteris sanborni*, *L. curasoe*, *L. yerbabuena*, *L. nivalis*, *L. longala* (Arita y Humphrey, 1988). En una primera conclusión determinan que todos los nombres utilizados para la designación de los murciélagos magueyeros están disponibles de acuerdo al Código Internacional de Nomenclatura Zoológica y que en orden de prioridad, los nombres *nivalis* y *longala* corresponden al morfotipo grande de *Leptonycteris* y que los nombres *sanborni* y *yerbabuena* corresponden al morfotipo pequeño de Norteamérica y *curasoe* a los ejemplares de Suramérica (Arita y Humphrey, 1988). Posteriormente,

discuten las conclusiones aportadas por Davis y Carter (1962), en las cuales se dice que los tres tipos de murciélagos pueden ser considerados como especies separadas (en Arita y Humphrey, 1988). Sin embargo, consideraron que la muestra estudiada por Davis y Carter (1962) carecía de individuos de Suramérica, la cual Arita y Humphrey (1988) sí estuvieron en posibilidad de analizar. Al aplicar una prueba de correspondencia canónica los resultados que obtuvieron demostraron la similitud que presentan los individuos designados como *yerbabuena* y como *curasoa* entre sí, y no con *nivalis* designándola como una especie separada. Como conclusión final consideran que si bien las diferencias presentadas por Davis y Carter (1962) pueden ser utilizadas para distinguir entre *yerbabuena* y *curasoa*, estos autores no tomaron en cuenta las similitudes en el componente alar, que hace prácticamente indistinguible a *yerbabuena* de *curasoa*. Por lo que sugirieron que se consideraran los subgrupos encontrados por Arita y Humphrey (1988) como subespecies *L. c. yerbabuena* para los individuos encontrados en el sur de Norteamérica y *L. c. curasoa* para los individuos encontrados en el norte de Suramérica (Arita y Humphrey, 1988).

Actualmente, muchos estudios que pretenden resolver alguna polémica taxonómica utilizan técnicas de análisis moleculares (García-Moreno *et al.*, 2006; García-Moreno *et al.*, en prensa; Zink *et al.*, 1997), de igual forma estos estudios pretenden determinar las ESU's para proponer estrategias de conservación (Solórzano, 2003). La información genética que obtuvimos en este estudio apoya por un lado el tratamiento propuesto por Davis y Carter (1962). Las secuencias de mtDNA muestran una separación genética, así como una estructuración entre estos tres grupos (*L. c. yerbabuena*, *L. c. curasoa* y *L. nivalis*). De tal forma que la información genética apoya la primera conclusión de Arita y Humphrey (1988) en la designación de *L. nivalis* para el morfotipo grande, ya que se forma un grupo claramente definido y bien estructurado que no se mezcla con el morfotipo pequeño de *L. c. yerbabuena* aunque se encuentran en la misma zona geográfica y tampoco se mezcla con *L. c. curasoa*. Sin embargo, estos mismos datos de secuencias no concuerdan con la designación de subespecies para el morfotipo *L. curasoa*. La F_{st} (0.750) encontrada muestra una estructuración por zonas geográficas entre las dos subespecies asignando cada secuencia a su origen geográfico. De la misma forma, el resultado de la prueba de Mantel muestra que existe un patrón de aislamiento por distancia entre estos grupos ($r = 0.836$ $P =$

0.00012, Fig. 2). En este caso no hay asignaciones de secuencias de un grupo al otro, como sucede en los datos morfométricos aportados por Arita y Humphrey (1988) donde el 20.3 % de los individuos de *yerbabuenae* y el 13.2% de los individuos de *curasoeae* son asignados al otro grupo respectivamente utilizando una prueba de correspondencia canónica. Así, los resultados obtenidos muestran que no existe flujo génico entre las subespecies designadas por Arita y Humphrey (1988) (Fig. 3). Los resultados de AMOVA indican que hay mayores diferencias entre los sitios que dentro de ellos, esto se debe a que estos grupos se encuentran separados al menos por 2400 km de distancia en donde el territorio entre los dos sitios de distribución carece de los corredores migratorios que harían posible la conexión entre los sitios, produciéndose una especiación alopátrica entre los dos grupos. Si suponemos que los datos de Wilkinson y Fleming (1996) son correctos, estos grupos compartieron un ancestro en común aproximadamente hace unos 0.54 millones de años, tiempo evolutivo que pudiera ser suficiente para producir un aislamiento reproductivo en ellos. De acuerdo con esta información consideraremos a la especie que se encuentra en Norteamérica como *L. yerbabuenae* y a la especie que se encuentra en Suramérica como *L. curasoeae*.

México

En México los resultados aportados por los datos de mtDNA indican que las poblaciones muestreadas presentan diferenciación genética ($F_{st} = 0.060$ y $N_e m = 7.79$), una diferenciación genética baja comparada con la encontrada entre México y Venezuela. Sin embargo, al comparar estos patrones de estructuración genética con otros marcadores como las isoenzimas utilizadas en aves podemos observar que existe una gran similitud. Solorzano (2003) ejemplifica estos patrones de similitud mostrando que los valores de isoenzimas pueden tener un promedio de $F_{st} = 0.076$, de igual forma podemos observar que el resultado de la prueba de Mantel aunque es bajo indica un patrón de estructuración geográfica ($r = 0.046$, $p = 0.0001$) como la planteada por Morales-Garza *et al.* (2007). Aunque la diferencia no es tan marcada como en los datos aportados por Morales-Garza *et al.* (2007), debemos considerar que al utilizar un marcador molecular como el mtDNA sólo estamos observando el posible comportamiento de las hembras, ya que estas moléculas se

heredan por vía materna. De igual forma, éste es un marcador altamente conservado por lo que es posible que el tiempo de separación en las poblaciones de México no haya sido el suficiente como para poderse ver reflejado usando esta técnica. En contraste, al utilizar un marcador como los RAPD's se está considerando también la información aportada por machos, por lo que la variación observada comprende a ambos sexos y su distribución nos muestra el comportamiento de toda la población y de igual forma es un marcador que puede reflejar cambios más recientes en la estructura genética ya que no se dirige a un sitio específico o altamente conservado.

Para poder comparar entre los datos de mtDNA obtenidos durante este trabajo y RAPD's obtenidos por Morales-Garza *et al.* (2007), se utilizó una prueba de Mantel, con la cual se compararon los sitios geográficos en los cuales se tenían datos para ambos marcadores (6 poblaciones en México). De esta forma, se esperaba determinar si ambos juegos de datos presentaban información similar entre sí basándonos en la hipótesis nula de la prueba de Mantel, donde se estipula que los datos contenidos en una matriz A son independientes de los datos contenidos en la matriz B (Mantel y Valand, 1970). Así, esperamos que los datos aportados por cada uno de los marcadores sean distintos entre sí, siguiendo el principio antes mencionado.

El resultado de la prueba nos indica que los datos mitocondriales y los datos de RAPD's están correlacionados de manera significativa ($r = 0.727$, $P = 0.001$), lo cual nos sugiere que ambos marcadores podrían estar siendo influenciados por un solo factor evolutivo, que podría ser la deriva génica, ya que es la única fuerza evolutiva capaz de actuar en un marcador como el mtDNA.

Al encontrar una relación positiva entre estos marcadores se recalculó la F_{st} y $N_e m$, así como la prueba de Mantel para los datos mitocondriales. Esto se hizo únicamente para los 6 sitios geográficos que se compararon con los datos de RAPD's. Los resultados muestran que la estructuración genética aumenta de acuerdo con la distancia geográfica, mostrando una $F_{st} = 0.078$, $N_e m = 5.90$. De manera similar, la prueba de Mantel para estos mismos datos muestra un patrón de aislamiento por distancia ($r = 0.695$, $P = 0.013$). Esto podría significar que existe una clina asociada a la distancia en las poblaciones mostrando una diferenciación genética mayor en los extremos del gradiente de la distribución de *L.*

yerbabuena. Como es de suponerse los extremos de las poblaciones presentarían una mayor diferencia genética entre ellos que con las poblaciones cercanas, como lo muestra la prueba de Mantel para el gradiente completo de la distribución.

Este resultado podría interpretarse como una alta movilidad de las hembras entre los sitios de reproducción y como una posible filopatría de los machos también a estos sitios de reproducción. Este efecto posiblemente se vea incrementado porque los machos pueden ser territoriales (Rojas-Martínez comunicación personal).

Así mismo, en México se encontraron dos posibles linajes designados con las letras a y b (Fig. 3). Geográficamente estos linajes se distribuyen uno por la costa del Pacífico exclusivamente (a) y el otro presenta una distribución mucho más amplia que va desde el noroeste por la parte interna de la Sierra Madre Occidental hasta el centro y Golfo de México (b). La separación entre estos dos linajes podría indicar la existencia de dos especies más en México, aunque ya se han realizado exhaustivas revisiones taxonómicas (Davis y Carter, 1962; Arita y Humphrey 1988) del género *Leptonycteris* estos resultados justificarían una nueva revisión taxonómica de la especie en México.

III. VI Conclusiones

De acuerdo con la información encontrada, sugiero que las subespecies *L. c. yerbabuena* y *L. c. curasoae* sean consideradas como especies *L. yerbabuena* y *L. curasoae*. Ambas subespecies cumplen con los conceptos de especie Filogenética, Ecológica, Genética, Alopátrica y Biológica para ser consideradas como especies separadas. Esto además concuerda con los criterios considerados por Cole y Wilson (2006) y Simons y Wetterer (2002), aunque en estos trabajos no se presentan datos como los mostrados en el presente trabajo, ya hacen la consideración de elevar taxonómicamente a estas dos subespecies.

Así mismo, aunque *L. nivalis* y *L. yerbabuena* se distribuyan de forma simpátrica no encontramos evidencia de intercambio génico entre estas dos especies, cada una de ellas

forma grupos claramente definidos y separados, lo cual apoya la nomenclatura designada para *L. nivalis*.

Además, la información encontrada muestra que existe una posible filopatría por parte de los machos en *L. yerbabuena* para la parte correspondiente a México. La información encontrada con los datos mitocondriales donde se muestra la existencia de dos grupos distintos de mtDNA en México apoya los datos presentados por Morales-Garza *et al.* (2007). Esto puede sugerir la existencia de dos especies más de *Leptoncyteris*, o en su caso subespecies, aunque se debe tener mucho cuidado al hacer la designación, ya que estos grupos pueden tener contacto reproductivo, aunque sea mínimo, como lo muestran los datos aportados por Morales-Garza *et al.* (2007), resultando en una hibridación de las poblaciones y haciendo difícil el manejo del concepto de especie en este grupo en particular.

Para poder definir lo anterior con una mayor certeza, sería necesario utilizar otro marcador molecular ya que es posible que las secuencias utilizadas no hayan tenido la suficiente resolución para mostrar de una forma más clara los patrones encontrados en México y por lo tanto, la obtención de secuencias de mayor tamaño podría darnos una mejor resolución al respecto, así como la utilización de un marcador específico del DNA genómico, o la utilización del cromosoma Y (Petit *et al.*, 2002). Esto se lograría buscando primers utilizados para otras especies que se dirijan específicamente a alguna región del DNA genómico, con la información que se obtenga de estas nuevas secuencias se podrán comparar los patrones obtenidos durante la realización de este trabajo. Además, la utilización en conjunto de secuencias del cromosoma Y y del mtDNA aportarían información sobre parámetros específicos de la población.

Agradecimientos

El financiamiento para el desarrollo de este trabajo fue aportado por DGAPA-PAPIIT proyecto No. IN209501 a MCA y proyecto IN-208301 a AV-B y convocatoria PAPCA-2003 a MCA y JC; beca DGEP a MRM-G, beca CONACyT MRM-G, apoyo financiero DGAPA-PAPIIT a MRM-G. INE-SEMARNAT otorgo los permisos de colecta necesarios para la captura de los murciélagos. Alejandro Monsalvo-Reyes FES-Iztacala UBIPRO. Queremos agradecer especialmente al Dr. Rojas-Martinez y al Dr. Woloszyn por la información referente a varios sitios de colecta.

Literatura Citada

Álvarez T. y González Quintero L. 1970. Análisis polínico del contenido gástrico de murciélagos Glossophaginae de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **18**, 137-165.

Álvarez T., N. Sánchez-Casas y A. Ocaña. 1998. La mastofauna de la región de Ticumán, Morelos, México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **43** (1-4), 51-66.

Álvarez T., N. Sánchez-Casas y J. A. Villalpando. 1999. Registro de los movimientos de *Leptonycteris curasoae yerbabuenae* en el centro de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **45**, 9-15.

Arita H. T. 1991. Spatial segregation in long-nosed bats, *Leptonycteris curasoae*, in Mexico. *Journal of Mammal*. **72**, 706-714.

Arita H. T. y Humphrey S. R. 1988. Revisión taxonómica de los murciélagos magueyeros del género *Leptonycteris* (Chiroptera:Phyllostomidae). *Acta Zoologica de México*. **29**, 1-60.

Avice J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press. Nueva York. pp. 447.

Avice J. C., Arnold J., Ball R. M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J. E., Reeb C. A. y N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecological Systematics*. **18**, 849-522.

Barbour R. W. y Davis W. H. 1969. *Bats of America*. University of Kentucky Press, Lexington Kentucky. pp. 286.

Bonnet E. y Van de Peer Y. 2002. ZT: a software tool for simple and partial Mantel test. *Journal of Statistical Software*. **7**, 1-12.

Bullock S. H. y Solis-Magallanes A. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*. **22**, 22-35.

Casas A., Caballero J, Valiente-Banuet A., Soriano J. A. y P. Dávila. 1999a. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in central Mexico. *American Journal of Botany*. **86**, 522–533.

Casas A., Valiente-Banuet A., Rojas-Martínez A., y P. Dávila. 1999b. Reproductive Biology and the Process of Domestication of the Columnar Cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico. *American Journal of Botany*. **86** (4), 534-542.

Castillo L. J. P. 2003. Biología de la polinización de *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum una cactácea con floración biestacional. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.

Cervantes Ramírez M. C. 2002. Plantas de Importancia Económica en las Zonas Áridas y Semiáridas de México. Temas Selectos de Geografía de México. I. 5. 3. Instituto de Geografía UNAM.

Cockrum E. L. (1991). Seasonal distribution of northwestern populations of the long nosed bats family Phyllostomidae. *Annales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autonoma México. Serie Zoológica*. **62**, 181-202.

Cole F. R. y D. E. Wilson. 2006. *Leptonycteris yerbabuenae*. *Mammalian species*. **727**, 1-7.

Crow J. F. y K. Aoki. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **81**, 6073-6077.

Davis W. B. y D. C. Carter. 1962. Review of the genus *Leptonycteris* (Mammalia: Chiroptera). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **75**, 193-198.

Fleming T. H., Nunez R. A. y Sternberg L. S. L. 1993. Seasonal changes in the diets of migrants and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. *Oecologia*, **94**, 72-75.

García-Moreno J., Navarro-Sigüenza A. G., Townsend Peterson A. y Sánchez-González L. A. (**en prensa**). Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution*.

García-Moreno J., Cortés N., García-Deras G. M. y Hernández-Baños B. E. 2006. Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: A Mesoamerican taxon. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **38**, 488-498.

GeneBank <http://www.ncbi.nih.gov>

Howell D. J. y B. S. Roth (1981). Sexual reproduction in agaves: the benefits of bats; the cost of semelparous advertising. *Ecology*, **62**, 1-7.

Howell D. J. 1979. Flock foraging in nectar-feeding bats: advantages to the plants and the host-plants. *American Naturalist*, **114**, 23-49.

Hudson R. R., Slatkin M. y Maddison W. P. 1992. Estimation of Levels of Gene Flow From DNA Sequence Data. *Genetics*, **132**: 583-589.

Koopman K. F. 1981. The distributional patterns of new world nectar feeding bats. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*. **68**, 352-369.

Kumar S., Tamura K. y Nei M. 1993. MEGA: Molecular Evolution Genetics Analysis. Version 1.01. The Pennsylvania State University. University Park. P.A. 16802.

Mantel N. y R. S. Valand. 1970. A technique of nonparametric multivariate analysis. *Biometrics*. **26**, 547-558.

Martínez L. y B. Villa-R. 1940. Segunda contribución al conocimiento de los murciélagos mexicanos. II. Estado de Guerrero. *Anales del Instituto de Biología*. Universidad Nacional de México. **11**, 291-361.

Miller G. S. Jr. 1900. Three new bats from the island of curazao. Proceedings of the Biological Society Washington. **13**, 123-127.

Mayr E. 1976. Evolution and diversity of life. Selected essays. The Belknap press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. pp. 721.

Medellin R. A., Arita H. T. y H. Ó. Sánchez. 1997. Identificación de los Murciélagos de México, Clave de campo. Asociación Mexicana de Maztozoología, A.C. México. pp. 83.

Morales-Garza M. R., Arizmendi M. del C., Campos J. E., Martínez-García M. y Valiente-Banuet A. 2007. Evidences on the migratory movements of the nectar feeding-bat *Leptonycteris curasoae* in Mexico using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Arid Environments*, **68**, 248-259.

Moritz C. 1994a. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation a critical review. *Molecular Ecology*. **3**, 401-411.

Moritz C. 1994b. Defining “evolutionary significant units” for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. **9**, 373-375.

Newton L. R., Nassar J. M. y T. H. Fleming. 2003. Genetic population structure and mobility of two nectar-feeding bats from Venezuelan deserts: inferences from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. **12**, 3191–3198.

Petit S. 1997. The diet and reproductive schedules of *Leptonycteris curasoae curasoae* and *Glossophaga longirostris elongata* (Chiroptera: Glossophaginae) on Curacao. *Biotropica*. **29**: 214-223

Petit E., Balloux F. y L. Excoffier. 2002. Mammalian population genetics: why not Y? *TRENDS in Ecology and Evolution*. **17** (1): 28-33.

Primack R. B. 1998. Essential of Conservation Biology. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. pp. 698.

Puerto G., de Graca Salomao M., Theakston R. D. G., Thorpe R. S., Warrell D. A. y W. Wuster. 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology*. **14**: 527–538.

Reyes S. J., Brachet I. C., Pérez C. J. y A. Gutierrez de la Rosa. 2004. *Cactáceas y otras plantas nativas de la cañanada Cuicatlán, Oaxaca*. Instituto de Biología UNAM. pp. 196.

Ridley M. 1993. Evolution. Blackwell Scientific Publication, Oxford, Inglaterra. pp. 458.

Rojas-Martínez A., Valiente-Banuet A., Arizmendi M. C., Alcántara-Egúren A., Arita H. 1999. Seasonal permanence of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in North America: Does a generalized migration pattern really exist? *Journal of Biogeography*. **26**: 1065-1070.

Rozas J., Sánchez-Del., Barrio J. C., Messeguer X., Rozas R. (2003). DNAsp, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*. **19**, 2496–2497.

Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México. pp. 432.

Schneider S., Roessli D. y L. Excoffier. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis, Ver. 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.

SEDESOL. 1994. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-ECOL-1994. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y establece especificaciones para su protección. *Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos*, CDLXXXVIII, No. 10.

SEMARNAT. 2000. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-ECOL-2000. Que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y establece especificaciones para su protección. *Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos*, CDLXXXVIII, No. 11.

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

Simons N. B. y A. L. Wetterer. 2002. Columnar Cacti and the Diets of Nectar-Feeding Bats. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, Eds. Theodore H. Fleming & Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

Solorzano L. S. 2003. Genética de la conservación del Quetzal (*Pharomachrus mocinno*) e impactos en la pérdida de sus hábitats reproductivos sobre su distribución. Tesis de Doctorado. UNAM. Morelia.

Sork L., Nason J., Campbell D. R., Fernandez J.F, 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *TRENDS in Ecology and Evolution*. **14**: 219-224.

Soriano J. P., y A. Ruiz. 2002. The Role of Bats and Birds in the Reproduction of Columnar Cacti in the Northern Andes. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, Eds. Theodore H. Fleming & Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

Soriano, S. O. Ruiz A. y J. M. Nassar. 2000. Notas sobre la distribución e importancia ecológica de los murciélagos *Leptonycteris curasoae* y *Glossophaga longirostris* en zonas áridas andinas. *Ecotrópicos*. **13**(2): 91-95.

Téllez Z. J. G. 2001. Migración de los murciélagos-hocicúdos (*Leptonycteris*) en el trópico mexicano. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias UNAM.

Stoner K.E., Karla A., -Salazar O., Roxana C., -Fernández R. y Quezada M., 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris curasoae*) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*. **12**: 357-373.

Tajima F. 1989. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics*. **123**: 585-595

USFWS. 1986. *Endangered and threatened wildlife and plant*. Department of Interior United States. Fish and Wildlife Service Washington, D.C.

Valiente-Banuet A., Arizmendi A. Ma. C., Rojas-Martínez A. y Domínguez-Canseco L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, **12**, 103-119.

Wetterer A. L., M. V. Rockman y N. B. Simmons. 2000. Phylogeny of phylostomid bats: data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **248**, 1-200.

Wilkinson G. S. y Fleming T. H. 1996. Migration and evolution of the lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*, **5**, 329-339.

Woloszyn D. y D. D. Woloszyn. 1982. *Los Mamíferos de la Sierra de la Laguna, Baja California Sur*. 167 pp. CONACyT, México.

Zink R. M., Blackwell R. C. y Rojas-Soto O. 1997. Species limits in the Le Conte's thrasher. *The Condor*. **99**, 132-138.

IV. CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Una de las especies de murciélagos cuya importancia como polinizador y dispersor ha sido comprobada en varios estudios es el murciélago magueyero menor *L. yerbabuena* en Norteamérica y *L. curasoae* en Suramérica (Capítulo 3 este trabajo). Estas especies han sido identificadas como unos de los integrantes más importantes en la relación mutualista presente entre algunas especies de cactus columnares y agaves, así como otras especies de plantas encontradas dentro del rango de distribución de este murciélago (Álvarez y González, 1970; Arizmendi *et al.*, 2002; Castillo, 2003; Stoner *et al.*, 2003; Valiente-Banuet *et al.*, 1996).

De acuerdo con los resultados encontrados durante este trabajo utilizando la técnica de RAPD's, al analizar la cantidad de polimorfismos presentes entre las poblaciones estudiadas dentro de México, podemos definir dos zonas de distribución geográfica: una que se definió como centro/sur y otra como norte/oeste. En estas zonas encontramos un rango de **0.61 a 0.68** polimorfismos para la zona centro/sur y un rango de **0.49 a 0.55** polimorfismos para la zona norte/oeste. Utilizando una prueba de AMOVA determinamos los patrones de varianza presentes entre las zonas de muestreo, aquí encontramos un patrón de varianza que muestra una gran diferencia entre los sitios analizados y que previamente se habían determinado por zonas geográficas (centro/sur y norte/oeste: $V_a = 60.84\%$), no así dentro de cada sitio ($V_b = 39.16\%$). Esto significa que las dos zonas geográficas definidas son diferentes, presentando una clara estructuración genética para los sitios muestreados. Este resultado concuerda con los datos aportados por los polimorfismos encontrados previamente. De igual forma, el índice de F_{st} obtenido para determinar el flujo genético entre los sitios, así como el número efectivo de migrantes entre ellos ($F_{st} = 0.608$, $N_e m = 0.11$) indican que entre las dos poblaciones previamente definidas no existe intercambio genético o que es casi nulo. Estos primeros resultados concuerdan con lo propuesto por Rojas-Martínez *et al.* (1999), donde se sugiere la existencia de poblaciones residentes de *L. curasoae* (= *L. yerbabuena* Capítulo 3 de este trabajo) en el trópico de México y poblaciones migratorias que entran y salen del trópico, llegando hasta el extremo norte de México colindando con los E. U. A. Hay que dejar en claro que la hipótesis de

Rojas-Martínez *et al.* (1999) menciona que las poblaciones son residentes en el sentido de que no se mueven del trópico mexicano y no considera que estas mismas poblaciones son migratorias en esta misma zona.

Así mismo, los resultados de la prueba de Mantel indican que las diferencias genéticas encontradas se deben a un patrón de aislamiento por distancia ($r = 0.72$, $p = 0.001$), confirmando que las dos poblaciones definidas son completamente diferentes entre sí (Morales-Garza *et al.*, 2007).

RAPD's

Con los resultados obtenidos utilizando la técnica de RAPD's y la literatura analizada podemos definir la existencia de hasta dos grupos poblaciones diferentes de *L. yerbabuena*:

1) La primera es un conjunto de poblaciones que se encuentran en la parte centro/sur de México y que se alimentan de los recursos presentes en esta zona a lo largo del año. Dicho grupo poblacional se mueve de forma altitudinal entre los parches de vegetación desplazándose hasta 100 km de un sitio de refugio a otro y que posiblemente tenga muy poco contacto reproductivo con la población de *L. yerbabuena* que se encuentra en la zona norte/oeste. Este efecto pudiera deberse al bajo número de migrantes que pueden llegar hasta la zona centro de la distribución. Al moverse de un sitio a otro durante la conmutación entre zonas algunos individuos pueden extraviarse, morir o ser depredados, por lo tanto la posibilidad de que se reproduzcan es mínima (Morales-Garza *et al.*, 2007). Esto puede acentuar las diferencias genéticas entre cada población. Otra explicación podría ser que debido a la gran cantidad de individuos encontrados en la zona centro/sur, (es decir que existen colonias con números poblacionales mayores a los migrantes que pueden llegar hasta esta zona de distribución) el intercambio reproductivo detectable es mínimo, de tal forma que el análisis pudo haberlo pasado por alto, aunque en este sentido ese resultado es poco probable (Morales-Garza *et al.*, 2007).

2) Las poblaciones del norte/oeste se subdividen a su vez en dos grupos poblacionales, un grupo poblacional migratorio que se mueve en un sentido norte a sur de Bahía Kino y por lo menos hasta Chamela en otoño e invierno, consumiendo los recursos presentes en un corredor de floración de cactus y que regresa al norte durante la primavera y verano siguiendo otro corredor de floración de plantas del género *Agave* (Ceballos *et al.*, 1997; Wilkinson y Fleming 1996), aunque la dirección del movimiento y las rutas de migración que sigue este grupo poblacional no están claros, ya que es posible que las poblaciones migrantes del norte no lleguen a la costa de Chamela, sino que se internen por la región de Autlán hacia las faldas o cerca de la Sierra Madre Occidental (Ceballos, comunicación personal).

También es posible que debido a la existencia de una población que se sugiere es residente en Chamela y las regiones centrales de Jalisco (Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2005; Stoner *et al.*, 2003), exista un intercambio reproductivo y genético con dicha población migratoria como lo indican los datos encontrados utilizando la técnica de RAPD's (Morales-Garza *et al.*, 2007). Estas poblaciones consumen los recursos presentes en la zona de residencia, aunque también existe la posibilidad que la población de Chamela se mueva hacia las partes del interior del estado hacia la reserva de la biósfera de Manantlán, ya que en la zona se producen suficientes recursos para mantener a las poblaciones de este murciélago (Cervantes, 2002; Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2005).

Con los datos aportados por RAPD's, podemos señalar la existencia de al menos dos grupos poblacionales de *L. yerbabuenae* genéticamente diferenciadas y definidas por las zonas geográficas previamente señaladas. Las poblaciones que se encuentran hacia la zona del Pacífico pueden entrecruzarse y por lo mismo en el análisis encontramos un alto flujo génico entre ellas, por esta razón no podríamos definir las como poblaciones completamente diferentes.

mtDNA

Algunos autores ya han propuesto (Cole y Wilson, 2006; Simons y Wetterer, 2002; Wilson y Reeder, 2005) que las subespecies de *L. curasoe* (*L. c. yerbabuenae* y *L. c. curasoe*)

son en realidad dos especies distintas (*L. yerbabuenae* y *L. curasoeae*) (Capítulo 3 de este trabajo), basándose en caracteres de tipo morfométrico. En este sentido Arita y Humphrey, (1988) aportan datos a favor de la existencia de las subespecies utilizando de igual forma caracteres morfométricos. El presente trabajo aporta datos de tipo molecular que apoyan la sugerencia de elevar a nivel de especie a las dos subespecies de *L. curasoeae*.

Utilizando la técnica de secuenciación del mtDNA se obtuvo un fragmento de la región control, el cual se comparó con secuencias reportadas en la literatura.

El análisis de estos resultados fue dividido en 2 zonas: Norteamérica para *L. c. yerbabuenae* y Suramérica para *L. c. curasoeae*. Al obtener los resultados de las secuencias analizadas detectamos que para *L. c. yerbabuenae* hay 38 sitios polimórficos, mientras que para *L. c. curasoeae* hay 11 sitios. Los valores de diferenciación genética encontrados para estas dos zonas sugieren la existencia de dos unidades evolutivas independientes. Del AMOVA obtenido de las secuencias (**Va = 75.02, Vb = 24.98**) encontramos que hay una gran cantidad de diferencias que se definen entre las zonas y no dentro de ellas, al igual que los resultados presentados con los datos de RAPD's esto significa que las dos poblaciones son completamente diferentes. Los estimadores indirectos del flujo genético, así como la prueba de Mantel (**Fst = 0.750, Nm = 0.166; r = 0.837 P = 0.0001**) sugieren que actualmente entre las subespecies no existe entrecruzamiento. De igual forma indican que las diferencias genéticas encontradas se deben a un patrón de aislamiento por distancia, el cual puede explicarse al efecto de alopatría que presentan. Es de suponerse entonces, que elevar de rango taxonómico a estos dos grupos sería posible como ya lo han propuesto algunos autores (Cole y Wilson, 2006; Simons y Wetterer, 2002; Wilson y Reeder, 2005). Para poder asignar como especie a cada una de estas subespecies primero debemos de hacer una breve revisión de algunos conceptos de especie. En este sentido los conceptos Biológico y Ecológico de especies establecen que cada especie será representada por un grupo de individuos que coexisten en tiempo y espacio, y a su vez están separadas reproductivamente de otros grupos. El concepto Alopátrico de especie es utilizado para las subespecies que se encuentran separadas y que por condiciones naturales no pueden tener contacto génico entre ellas (Primack, 1998). El punto clave entre estos tres conceptos de especie es el contacto reproductivo que se determina por barreras geográficas en los conceptos Biológico

y Alopátrico y por barreras de tipo etológico en el concepto Ecológico de especie (Mayr, 1976; Ridley, 1993; Primack, 1998). Otro concepto importante para describir a las especies evolutivamente es el concepto Filogenético que resulta útil al comparar especies cercanas o hasta subespecies (Peterson y Navarro-Sigüenza, 1999).

De tal forma que los resultados que obtuvimos con el marcador de tipo mitocondrial sugieren que las dos subespecies de *L. curasoe* pueden ser elevados al rango de especie (*L. c. yerbabuena* = *L. yerbabuena* y *L. c. curasoe* = *L. curasoe*). Para determinar que *L. yerbabuena* no se entrecruza con especies cercanas comparamos con otra especie del género *Leptonycteris*, *L. nivalis* que es una especie aceptada del género y que además se distribuye de forma simpátrica con *L. yerbabuena* en Norteamérica. Los resultados de este análisis muestran que es efectivamente un grupo completamente diferente de *L. yerbabuena* (Cap. 3 este trabajo), cumpliendo así con el supuesto de especie ecológica que considera que no debe haber entrecruzamiento con especies cercanas, el cual resultaría en intercambio de material genético, dicho efecto sería evidente al hacer este tipo de análisis.

Al considerar las diferencias genéticas encontradas entre estos grupos y que así mismo no se presenta flujo génico entre ellos y al revisar los conceptos biológico, ecológico, genético y filogenético de especie, sugerimos que estas subespecies sean consideradas como especies distintas: *L. yerbabuena* para Norteamérica y *L. curasoe* para Suramérica.

De aquí en adelante utilizaremos la nomenclatura sugerida para el grupo perteneciente a la parte de Norteamérica, *L. yerbabuena*. En México los resultados muestran que varias de las zonas de muestreo presentan los mismos haplotipos, por lo que son agrupados dentro de una misma rama o grupo en un filograma. Al calcular la F_{st} para *L. yerbabuena* encontramos que no hay una estructuración poblacional clara ($F_{st} = 0.078$, $N_e m = 5.90$). Sin embargo, la prueba de Mantel muestra que existe aislamiento por distancia entre las sitios de colecta ($r = 0.102$, $P = 0.001$).

Al aplicar la prueba de Mantel entre los extremos (Bahía Kino, Las Cuevas y Chamela – extremo noroeste-; Xoxafí, Ticumán y Nochixtlán –extremo centro sur-) encontramos una relación positiva ($r = 0.696$, $P = 0.013$) entre ellos, pero al calcular la F_{st} para estos

extremos de la distribución, también muestra que no existe estructuración entre las poblaciones ($F_{st} = 0.060$, $N_e m = 7.79$).

Estos resultados pueden interpretarse como un indicador del movimiento diferencial entre los sexos de esta especie (Fleming y Eby, 2003), sugiriendo que las hembras son las que se mueven entre los sitios que les sirven como refugio y los sitios donde tienen a sus crías, y que los machos presentan un comportamiento de territorialidad así como de filopatría a los sitios de refugio, aunque hace falta realizar estudios dirigidos a determinar si este tipo de comportamiento es probable.

Así los resultados para la parte de Norteamérica indican la posible existencia de dos clados distintos. Esta información al ser interpretada con los resultados aportados por los RAPD's indicaría que efectivamente existen dos poblaciones distintas de *L. yerbabuena* en México. Estos grupos podrían ser reasignados taxonómicamente al igual que *L. yerbabuena* y *L. curasoe*, pero esta asignación deberá basarse en un análisis más detallado que conjunte una mayor cantidad de datos moleculares así como una nueva revisión taxonómica del grupo en el gradiente de Norteamérica de ser posible.

Para poder darle sentido a los datos aportados por los marcadores moleculares utilizados en este trabajo debemos considerar las hipótesis de la especialización que se presenta en algunos sistemas de polinización, como el de *Pachycereus pecten-aboriginum* y *Stenocereus queretaroensis* (Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2005; Valiente-Banuet *et al.*, 2004). Dichas hipótesis predicen que el sistema será altamente especializado al depender completamente del polinizador específico. Por ejemplo, Valiente-Banuet *et al.* (2004) reportan haber encontrado en *Pachycereus pecten-aboriginum* un sistema altamente especializado en los trópicos y poco especializado en las regiones extratropicales como los desiertos de Sonora. Los resultados aportados por Rojas-Martínez *et al.* (1999) y Valiente-Banuet *et al.* (2004), apoyan la hipótesis de la existencia de una población migratoria de *L. yerbabuena* y una población residente de la misma especie para la región de Chamela, que depende de los recursos aportados tanto por *P. pecten-aboriginum* como de *S. queretaroensis* (Rojas-Martínez *et al.*, 1999; Stoner *et al.*, 2003). Aunque también debemos considerar que *L. yerbabuena* no es el único polinizador nocturno que existe, también *Glossophaga* spp. y *Choeronycteris mexicana* son polinizadores nocturnos que pueden

estar llenando el vacío que dejaría *L. yerbabuena* en caso de que este último migrara (por lo menos en la costa del Pacífico) como se plantea por la hipótesis migratoria. En todo caso parece ser que el valor como polinizadores que presentan *Glossophaga* spp. y *C. mexicana* no ha sido evaluado completamente.

Finalmente, podemos decir que esta especie de murciélago al encontrarse en un sistema altamente dinámico y cambiante, funcionaría como un muy buen indicador de deterioro o hasta de fragmentación ecológica, ya que la información que se obtiene a nivel de conexiones poblacionales entre los sitios migratorios es de suma importancia, particularmente la información que representa los sitios donde la especie tiene a sus crias o cuevas de maternidad. En este sentido se conocen pocos sitios donde *L. yerbabuena* tiene crias en México, algunos de estos sitios están en Chamela en el estado de Jalisco (Ceballos *et al.*, 1997 y Stoner *et al.*, 2003) y otros en Bahía Kino en el estado de Sonora, por mencionar solo algunos. Posiblemente existan otros sitios que sirvan como cuevas de maternidad en los estados donde también se distribuye *L. yerbabuena*, aunque no han sido reportados aún o para este caso encontrados por la dificultad en el acceso a dichas cuevas por parte de los investigadores interesados en el tema.

CONCLUSIONES

Los resultados aportados por este trabajo sugieren la existencia de dos grupos poblacionales bien definidos para *L. curasoae*, de esta forma las subespecies pueden ser considerados como especies independientes: *Leptonycteris yerbabuena* para Norteamérica y *Leptonycteris curasoae* para Suramérica. Estos datos moleculares podemos considerarlos como un marcador importante para elevar de rango taxonómica a estas subespecies. Además, si tomamos en cuenta las consideraciones hechas por otros autores (Cole y Wilson, 2006; Simons y Wetterer, 2002; Wilson y Reeder, 2005), es posible elevar a dichas subespecies de rango taxonómico.

De igual forma, los resultados en la parte de Norteamérica indican la existencia de dos clados distintos de *L. yerbabuena* que en conjunto con los datos aportados por RAPD's pudieran ser interpretados como especies distintas. Aunque en este sentido esta sugerencia debiera analizarse con sumo cuidado hasta no tener más datos que muestren que las poblaciones de *L. yerbabuena* en México están en procesos de especiación o de que las poblaciones que en este trabajo se determinaron como clados distintos realmente lo sean, la utilización de *L. yerbabuena* para la especie en México es el término más adecuado.

Al analizar la hipótesis de migración que se ha planteado para la especie *L. yerbabuena* (Arita, 1991; Barbour y Davis, 1969; Cockrum, 1991; Fleming *et al.*, 1993; Howell, 1979; Koopman, 1981; Valiente-Banuet *et al.*, 1996) se comprobó que es mucho más compleja de lo planteado en un principio. Dicha hipótesis de migración se planteó suponiendo que la especie se mueve de norte a sur, sin embargo, ya hemos aclarado que la migración se define como los movimientos realizados por una especie desde sus sitios de residencia invernal hasta sitios de apareamiento y crianza de primavera (del Hoyo *et al.*, 1992; Dingle, 1996). Esto es independiente de la dirección de los movimientos, los cuales no necesariamente tienen que ser en el sentido planteado en un principio para *L. yerbabuena* (Arita, 1991; Barbour y Davis, 1969; Cockrum, 1991; Fleming *et al.*, 1993; Howell, 1979; Koopman, 1981; Valiente-Banuet *et al.*, 1996). En trabajos previos realizados por otros autores no consideraron las poblaciones que se encuentran en la parte del centro de México, sitios que sí son analizados por Rojas-Martínez *et al.* (1999) y por este trabajo. Aunque la hipótesis planteada por Rojas-Martínez *et al.* (1999), así como los datos aportados por Morales-Garza *et al.* (2007) sugieren que en el sentido de una migración latitudinal las poblaciones del trópico mexicano son residentes, no lo son en el sentido amplio propuesto por la definición de migración utilizada (del Hoyo *et al.*, 1992; Dingle, 1996; Fleming y Eby, 2003). Así, hasta el momento, los datos que presenta Galindo *et al.* (2004) son lo más cercanos a la residencia de la especie en un solo refugio. Sin embargo, se demuestra que las poblaciones del centro-sur de México definidas por Morales-Garza *et al.* (2007) y las poblaciones de norte-oeste son diferentes entre sí, sugiriendo que los patrones migratorios de ambas poblaciones son distintos.

Los datos aportados por RAPD's indican que existen dos grupos poblacionales distintos de *L. yerbabuena* en México que se encuentran geográficamente separadas en dos zonas definidas como centro/sur y norte/oeste. Es posible la existencia de una tercera población que se encuentra en la región de Chamela en Jalisco y presenta flujo génico con la población que se encuentra en la región norte/oeste. Sin embargo, para poder diferenciar entre estas dos poblaciones se deberá realizar un análisis más detallado de este flujo génico, por lo que estas consideraciones se deberán tomar con cautela.

Literatura Citada

Álvarez T. y González Quintero L. 1970. Análisis polínico del contenido gástrico de murciélagos Glossophaginae de México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México*. **18**, 137-165.

Arita H. T. 1991. Spatial segregation in long-nosed bats, *Leptonycteris curasoae*, in Mexico. *Journal of Mammal*. **72**, 706-714.

Arita H. T. y Humphrey S. R. 1988. Revisión taxonómica de los murciélagos magueyeros del género *Leptonycteris* (Chiroptera:Phyllostomidae). *Acta Zoologica de México*. **29**, 1-60.

Arizmendi M. C., Valiente-Banuet A., Rojas-Martinez A. y P. Dávila-Aranda. 2002. Columnar Cacti and the Diets of Nectar-Feeding Bats. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, Eds. Theodore H. Fleming & Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

Barbour R. W. y Davis W. H. 1969. *Bats of America*. University of Kentucky Press, Lexington Kentucky.

Castillo L. J. P. 2003. Biología de la polinización de *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum una cactacea con floración biestacional. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias UNAM.

Ceballos G., Fleming T. H., Chávez C. y Nassar J. 1997. Populations dynamics of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera; Phyllostomidae) in Jalisco, México. *Journal of Mammalogy*, **78**: 1220-1230.

Cervantes Ramírez M. C. 2002. Plantas de Importancia Económica en las Zonas Áridas y Semiáridas de México. *Temas Selectos de Geografía de México*. I. 5. 3. Instituto de Geografía UNAM.

Cole F. R. y D. E. Wilson. 2006. *Leptonycteris yerbabuenae*. *Mammalian species*. **727**, 1-7.

Cockrum E. L. 1991. Seasonal distribution of northwestern populations of the long nosed bats family Phyllostomidae. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México Serie Zoológica*. **62**, 181-202.

Del Hoyo J., Elliott A. y Sargatal J. Eds. 1992. *Handbook of the birds of the world*. Vol. 1. Linx Editions. Barcelona.

Dingle R. D. 1996. *Migration: the biology of the life on move*. Oxford University Press, Oxford.

Fleming T. H., Nunez R. A. y Sternberg L. S. L. 1993. Seasonal changes in the diets of migrants and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. *Oecologia*. **94**, 72-75.

Fleming T. H. y P. Eby. 2003. Ecology of Bat Migration. En *Bat Ecology*. Eds. Thomas H. Kunz y M. Brock Fenton. The University of Chicago Press.

Galindo G. C., Sánchez Q. A., Quijano R. H. y L. G. Herrera M. 2004. Population Dynamics of a Resident Colony of *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Central Mexico. *Biotropica*. **36**(3), 382-391.

Howell D. J. 1979. Flock foraging in nectar-feeding bats: advantages to the plants and the host-plants. *American Naturalist*. **114**, 23-49.

Ibarra-Cerdeña C., Iñiguez-Davalos L. I. y V. Sánchez-Cordero. 2005. Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of Mexico. *American Journal of Botany*. **92**(3): 503-509.

Koopman K. F. 1981. The distributional patterns of new world nectar feeding bats. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*. **68**, 352-369.

Mayr E. 1976. Evolution and diversity of life. Selected essays. The Belknap press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. pp. 721.

Morales-Garza M. R., Arizmendi M. del C., Campos J. E., Martínez-García M. y Valiente-Banuet A. 2007. Evidences on the migratory movements of the nectar feeding-bat *Leptonycteris curasoae* in Mexico using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Arid Environments*. **68**: 248-259.

Peterson A. T. y Navarro-Sigüenza A. G. 1999. Species concepts and setting conservation priorities: A Mexican case study. Pp: 1483-1489. En: Proc. 22 International Ornithological Congress, N.J. Adams y R.H. Slotow (eds). Durban, Johannesburg: Bird Life South Africa.

Primack R. B. 1998. Essential of Conservation Biology. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. pp. 698.

Ridley M. 1993. *Evolution*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, Inglaterra.

Rojas-Martínez A., Valiente-Banuet A., Arizmendi M.C., Alcántara-Egúren A., Arita H. 1999. Seasonal permanence of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in North America: Does a generalized migration pattern really exist? *Journal of Biogeography*. **26**: 1065-1070.

Simons N. B. y A. L. Wetterer. 2002. Columnar Cacti and the Diets of Nectar-Feeding Bats. En: *Columnar Cacti and Their Mutualists*, Eds. Theodore H. Fleming & Alfonso Valiente-Banuet. The University of Arizona Press.

Stoner K. E., Karla A., Salazar O., Roxana C., Fernández R. y Quezada M., 2003. Population dynamics, reproduction, and diet of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris*

curasoae) in Jalisco, Mexico: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*. **12**: 357-373.

Wilkinson G. S. y Fleming T. H. 1996. Migration and evolution of the lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. **5**, 329-339.

Wilson, Don E. y D. M. Reeder. 2005. *Mammal Species of the World, A Taxonomic and Geographic Reference*. 3^{ra} edición, Volumen 1. The Johns Hopkins University Press. Baltimore. pp. 1206.

Valiente-Banuet A., Arizmendi M.C., Rojas-Martínez A. y Domínguez-Canseco L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*. **12**: 103-119.

Valiente-Banuet A., Molina-Freaner A., Torres A., Arizmendi M.C. y A. Casas. 2004. Geographic differentiation in the pollination system of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum*. *American Journal of Botany*. **91**: 850-855.