PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sistemática molecular y redescripción de *Myotis diminutus* (Chiroptera: Vespertilionidae)

Disertación previa a la obtención del título

Licenciada de Ciencias Biológicas

Ana Belén Manzano Hinojosa

Quito, 25 de junio de 2020

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Srta. Ana Belén Manzano Hinojosa ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



María Alejandra Camacho, M.Sc.

Directora de la Disertación

Quito, 23 de junio de 2020

A mi mamá,
por enseñarme que, con amor, fe, paciencia y esfuerzo todo sueño es posible.

AGRADECIMIENTOS

A Carlos Carrión, quien fue el promotor de esta investigación y orientador del conocimiento que he plasmado en mi trabajo. Por facilitarme en la obtención de los datos moleculares y el material necesario para desarrollar mi estudio.

A Alejandra Camacho, por ser mi tutora, que con sus sabios consejos guio cada etapa del desarrollo de mi investigación.

A mis lectores Santiago Ron y Santiago Burneo, que brindaron su tiempo para mejorar mi trabajo con sabias y acertadas sugerencias.

A Ricardo Moratelli por su importante colaboración al compartir datos de los especímenes.

A la Sección de Mamíferos del Museo de Zoología de la PUCE, por brindarme la oportunidad de utilizar los especímenes para analizarlos y presentar los resultados en este, mi trabajo. A Nicolás Tinoco, por sus sabios consejos y su valiosa ayuda durante el análisis de los datos. Gracias por todo el tiempo y paciencia.

A todos mis amigos de la universidad, especialmente a Vanessa Parra y Katherine Calvache, quienes fueron pilares fundamentales en esta investigación. Agradezco no solo su ayuda en este trabajo, sino también su amistad, por todas las risas, bailes y palabras de apoyo que me motivaron para seguir mi camino.

A Anita Peñafiel, por ser una verdadera amiga, por todo el apoyo incondicional y sabios consejos.

A mis amigas de vida, Belén, Lizeth y Grace, por las risas, experiencias y alegrías que me permitieron llegar hasta donde estoy.

A mi mamá, Lolita, y a mis abuelitos Marianita y Eliseo. Por ser la parte más importante de mi vida, por su cariño y amor incondicional. Les agradezco por siempre creer en mí y en mis sueños.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN 9
2. ABSTRACT 10
3. INTRODUCCIÓN 11
3.1. Investigaciones previas sobre Myotis 12
3.2. Historia geográfica de *Myotis* en Sudamérica 15
3.3. *Myotis* en Sudamérica y Ecuador 16
3.4. El bosque del Chocó ecuatoriano 17
3.5. Formulación del problema 18
3.6. Justificación de la investigación 19
3.7. Objetivos 20
4. MATERIALES Y MÉTODOS 21
4.1. Revisión e identificación de especímenes 21
4.2. Análisis moleculares 22
4.2.1. Extracción y secuenciación de ADN 22
4.2.2. Alineamiento y edición de secuencias 23
4.2.3. Análisis filogenéticos de Inferencia Bayesiana y de Máxima Verosimilitud 24
4.2.4. Distancias genéticas 25
4.3. Análisis de variables cuantitativas 25
4.3.1. Descriptivos de las variables morfométricas 25
4.3.2. Análisis estadísticos de las variables 28
4.3.3. Análisis de Componentes Principales (ACP) 29
4.3.4. Agrupamiento de especies 30
4.4. Análisis de las variables cualitativas 31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 31
5.1. Análisis moleculares 31
5.1.1. Extracción y Secuenciación 31
5.1.2. Análisis filogenéticos de Inferencia Bayesiana (IB) y de Máxima Verosimilitud (MV) 31
5.1.3. Distancias genéticas 37
5.2. Revisión e identificación de especímenes 40
5.3. Análisis de variables cuantitativas 42

5.3.1. Descripción de las variables morfométricas 42
5.3.2. Análisis estadísticos de las variables 45
5.3.3. Análisis de Componentes Principales 49
5.3.4. Agrupamiento de especies 54
5.4. Diagnosis enmendada de *Myotis diminutus* 60
5.5. Clave de identificación 71
5.6. Estado de conservación 71
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 73
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia bajo el criterio de Inferencias Bayesiana (IB). 32

Figura 2. Filogenia bajo el criterio de Máxima Verosimilitud (MV). 34

Figura 3. Mapa de las localidades de las especies analizadas. 39

Figura 4. Regresión lineal de las variables. 44

Figura 5. Análisis de Componentes Principales de dos agrupaciones morfométricas**..** 49

Figura 6. Análisis Discriminante de cinco agrupaciones morfométricas. 55

Figura 7. Mapa de las localidades de *Myotis diminutus*. 59

Figura 8. Pelaje de *Myotis diminutus.* 61

Figura 9. Cráneo d**e** *Myotis diminutus.* 62

Figura 10. Diferencias en la forma y tamaño de cráneos de cuatro especies con las que se comparó a *Myotis diminutus*. 64

Figura 11. Diferencias en la forma de la región maxilar de cuatro especies con las que se comparó a *Myotis diminutus*. 66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Medidas cráneo-dentales y corporales. 25

Tabla 2. Distancias genéticas 35

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de las variables 41

Tabla 4. Especies con datos atípicos 46

Tabla 5. Análisis de matriz de correlaciones 48

Tabla 6. Análisis de Componentes Principales de cinco agupacionesde corre 50

Tabla 7. Matriz de confusión de agrupamientos de cinco especies del género Myotis mediante el algoritmo K-means**.** 52

Tabla 8. Clasificación predicha de Análisis de Función Discriminante**..** 53

Tabla 9. Análisis de Función Discriminante de cinco agrupaciones morfométricas 54

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Información general de los ejemplares utilizados en los análisis morfométricos para esta investigación**.** 89

Anexo 2. Información molecular de los ejemplares utilizados en esta investigación en base al gen Citocromo b 90

Anexo 3. Ejemplificación de las mediciones morfométricas**.** 93

1. RESUMEN

Myotis diminutus Moratelli y Wilson, 2011 fue descrita con base en un solo individuo subadulto en Ecuador. La localidad tipo corresponde al Centro Científico Río Palenque en la provincia de Los Ríos. Estudios previos, colocan a *Myotis nigricans* Schinz, 1821, morfométricamente cercano a *M. diminutus*, pero puede ser distinguido por la variación en el tamaño del antebrazo y del cuerpo. El estado taxonómico de *M. diminutus* ha sido cuestionado debido a la poca información que se tiene sobre esta especie. En este estudio, basado en análisis cuantitativos, cualitativos y moleculares, se confirma a *M. diminutus* como una especie válida. Se comparó a M. *diminutus* (*sensu stricto*) con otras especies que se han registrado en la Costa Ecuatoriana, para observar la variación morfológica y los caracteres diagnósticos de *Myotis diminutus*. Los resultados cuantitativos concluyeron que no existe una diferenciación evidente entre *Myotis diminutus* y el resto de las especies de este género presentes en la costa ecuatoriana, aunque se evidenció que las variables que corresponden al índice craneal (CRI) y el índice maxilar (MXI), son de menor tamaño en M. *diminutus* que en el resto de las especies, siendo dimensiones para tomar en cuenta en la identificación. Los datos cualitativos indicaron que existe una variación en la forma de los procesos mandibulares, los cuales variaron entre las especies. Este conjunto de datos y los nuevos registros geográficos de esta especie, ayudan a entender mejor la ecología y el estado de conservación de *M. diminutus*.

Palabras clave: *Myotis,* Citocromo b, sistemática, taxonomía.

2. ABSTRACT

Myotis diminutus Moratelli and Wilson, 2011 was described based on a single subadult individual in Ecuador. The type locality corresponds to the Río Palenque Scientific Center in the province of Los Ríos. Previous studies place *Myotis nigricans* Schinz, 1821, morphometrically close to *M. diminutus*, but it can be distinguished by the variation in the size of the forearm and body. The taxonomic status of *M. diminutus* has been questioned due to the little information that is available on this species. In this study, based on quantitative, qualitative and molecular analyzes, *M. diminutus* is confirmed as a valid species. *M. diminutus* (*sensu stricto*) was compared with other species that have been registered in the Ecuadorian Coast, to observe the morphological variation and the diagnostic characteristics. The quantitative results concluded that there is no obvious differentiation between *Myotis diminutus* and the rest of the species of this genus present on the Ecuadorian Coast, although it was shown that the variables that correspond to the cranial index (CRI) and the maxillary index (MXI) , are smaller in *M. diminutus* than in the rest of the species, being dimensions to be taken into account in the identification. Qualitative data indicated that there is variation in the shape of the mandibular processes, which varied between species. This dataset and new geographic records for this specie help us to understand the ecology and conservation status of *M. diminutus*.

Keywords: *Myotis*, Cytochrome b, systematic, taxonomy.

3. INTRODUCCIÓN

El orden Chiroptera es el segundo más diverso de los mamíferos (Wilson y Mittermeier, 2019). Este orden cuenta con cerca de 1400 especies descritas y muchas más especies que no se han descrito aún debido a la gran cantidad de diversidad críptica (Bickford et al., 2007; Burgin et al., 2018). El conjunto de adaptaciones morfológicas y ecológicas, relacionadas con el vuelo (por la presencia de alas), tipo de alimentación, ecolocalización y hábitos nocturnos han permitido que los murciélagos sean uno de los grupos más exitosos globalmente y ocupen varios nichos ecológicos (Schnitzler, Moss y Denzinger, 2003; Gardner, 2008; Tirira, 2018; Wilson y Mittermeier, 2019). Los murciélagos exhiben distintos tipos de estrategias alimenticias; el mayor porcentaje es insectívoro, mientras que el resto se alimenta de frutas, peces, carne, néctar y una pequeña parte se alimenta de sangre (Park, Masters y Altringhram, 1998; Baker, Bininda-Emonds, Mantilla-Meluk, Porter y Van Den Bussche, 2012). Además de estas características, los murciélagos brindan una cantidad de servicios ecosistémicos como la polinización, dispersión de semillas y controladores de plagas, lo que los hace una de las especies más beneficiosas, aunque desconocidas (Gouge, Li, y Nair, 2015).

Dentro de Chiroptera, la familia Vespertilionidae es la más diversa a nivel global (LaVal, 1973; Ruedi y Mayer, 2001). Esta familia cuenta con alrededor de 505 especies distribuidas cosmopolitamente, excepto en los polos. (Wilson y Mittermeier, 2019). Taxonómicamente, Vespertilionidae está dividida en cuatro subfamilias (Vespertilioninae, Kerivoulinae, Myotinae y Murininae), de las cuales, la subfamilia Vespertilioninae está subdividida en diez tribus (Hoofer y Van de Bussche, 2003; Wilson y Mittermeier, 2019). En Sudamérica existen 54 especies reconocidas e identificadas en cinco géneros: *Eptesicus* (Vespertilioninae), *Histiotus* (Vespertilioninae), *Lasiurus* (Vespertilioninae), *Rhogeessa* (Vespertilioninae) y *Myotis* (Myotinae), siendo este último género el que presenta un mayor numero de especies descritas (Gardner, 2008; Tirira, 2018; Wilson y Mittermeier, 2019). El género *Eptesicus* presenta incisivos superiores internos más grandes que los externos y sin espacio evidente entre el canino y el premolar. El género *Rhogeessa* tiene un incisivo superior a cada lado, pelaje dorsal con dos bandas. El género *Lasiurus* tiene un uropatagio densamente cubierto por pelos en el lado dorsal, orejas cortas y redondeadas. El género *Histiotus* se caracteriza por orejas muy grandes, que

extendidas sobrepasan el hocico. Finalmente, el género *Myotis* presenta incisivos de similar tamaño, con el primer y segundo premolar casi imperceptibles dando el aspecto de un diastema entre el canino y el tercer premolar superior (Díaz, Solari, Aguirre, Aguiar y Barquez, 2016). Sin embargo, cuando se trata de dilucidar identificaciones de las especies y sus relaciones dentro del género, existe una mayor dificultad debido a variaciones morfológicas muy poco evidentes (Ruedi y Mayer, 2001; Lack, Roehrs, Stanley, Ruedi y Van Den Bussche, 2010).

Esta falta de diferenciación ha dificultado la clasificación taxonómica a nivel interespecífico, por lo que se usan análisis moleculares como herramientas de apoyo (Ruedi y Mayer, 2001; Hoofer y Bussche, 2003; Stadelmann, Lin, Kunz y Ruedi, 2007; Platt et al., 2018).

3.1.Investigaciones previas sobre *Myotis*

El género *Myotis* está contenido en la subfamilia Myotinae, dentro de la familia Vespertilionidae (Hoofer y Bussche, 2003; Platt et al., 2018). Es un género muy diverso, con alrededor de 131 especies distribuidas en todo el planeta (Wilson y Mittermeier, 2019), muchas de estas especies, habitan en simpatría con conespecíficos sin aparente exclusión competitiva (Fenton y Bogdanowicz, 2002). Este género posee especies de murciélagos pequeños, de pelaje suave, con tonalidades que se acercan al marrón, a veces con pequeños toques rojizos, cabeza triangular, rostro cónico, orejas medianas con la punta redondeada, trago delgado y puntiagudo, alas largas y estrechas, y cola larga recubierta por el uropatagio. Poseen una fórmula dental de I 2/3, C1/1, P3/3 y M 3/3 con un total de 38 dientes (Tirira, 2017). Por lo general, el género no presenta variaciones fenotípicas evidentes entre las especies, lo que ha incrementado el número de complejos de especies crípticas, dentro de las cuáles se dificulta la identificación taxonómica con base en caracteres morfológicos (Mayer y Von Helversen, 2001; Hoofer y Bussche, 2003; Bickford et al., 2007; Novaes, Wilson, Ruedi y Moratelli, 2018).

El potencial gran número de especies crípticas dentro del género *Myotis* hace que sea muy interesante desde el punto de vista taxonómico, debido a que las semejanzas morfológicas pueden no reflejar las relaciones filogenéticas cercanas (Ruedi y Mayer, 2001; Stadelmann et al., 2007). Los cambios taxonómicos en este grupo han sido de importancia y no siempre acertados

(Lack y Van Den Bussche, 2010; Platt et al., 2018); es por esta razón que, desde hace algunos años, los estudios se basan en técnicas de integración donde se asocian varias áreas del conocimiento científico como la ecología, la morfología o la sistemática molecular, para poder generar conjeturas más acertadas con respecto a una especie (Ghazali, Moratelli, y Dzeverin 2017).

Las primeras investigaciones taxonómicas del género *Myotis* se realizaron con base en diferencias morfológicas y morfométricas (Wilson y LaVal, 1974). Una de estas primeras investigaciones fue propuesta por Findley (1972) que clasificó a las especies dentro de *Myotis* en cuatro subgéneros distintos que fueron *Myotis, Selysius, Leuconoe* y *Cistugo,* con base en rasgos morfológicos relacionados con características ecológicas como el tipo de dieta y el tipo de vuelo. Aunque esta clasificación era válida para la época, estudios más profundos con base en características moleculares descartaron esta agrupación (Ruedi y Mayer, 2001; Hoofer y Van Den Bussche, 2003).

En el caso de *Myotis* han existido varios estudios filogenéticos para conocer las relaciones de este género a distintos niveles. Estas investigaciones se hicieron más frecuentes para la familia Vespertilionidae a partir del año 2000, donde el uso de herramientas moleculares como genes mitocondriales, ayudaron a aclarar algunas relaciones taxonómicas (Ruedi y Mayer, 2001; Hoofer y Bussche, 2003; Ray, Pagan, Thompson y Stevens, 2007; Stadelmann et al., 2007). Estos análisis que integraban información molecular mostraron que *Myotis* sugiere una historia zoogeográfica no tan compleja y que la diversificación en base a la similitud ecológica y morfológica refleja eventos de evolución convergente en distintas partes del mundo. En este estudio también se observó que las similitudes morfológicas rara vez reflejan las relaciones filogenéticas cercanas. Adicionalmente, se concluyó que las similitudes ecológicas y la cercanía geográfica dentro de *Myotis* pueden predecir mejor la clasificación taxonómica que los rasgos morfológicos. Estos resultados apoyan estudios anteriores en los que ya se hablaba de una clasificación con base en ecomorfos relacionados a características ecológicas como el tipo de dieta y vuelo (Findley, 1972). La diversificación del género está relacionada a la especialización con respecto a las formas de alimentación como son: la recolección (aérea/ cerca del suelo), recolección sobre la superficie del agua y la pesca de arrastre (Fenton y Bogdanowicz, 2002).

Stadelmann y colaboradores (2007) encontraron que el origen geográfico del género se relaciona con su diversificación en la región Paleártica y Neotropical en América que ocurrió por la colonización de especies del Viejo Mundo a través del estrecho de Bering. Pero, específicamente, la diversificación de esta familia para la región sudamericana se relaciona con un posible origen en la región del Caribe y Norteamérica, con poblaciones que eventualmente migraron para la región sur del continente (Lack y Van Den Bussche, 2010; López-Aguirre, Hand, Laffan, y Archer, 2018).

A partir del año 2007, los análisis se empezaron a enfocar en las relaciones del género con base en genes nucleares (Stadelmann et al., 2007; Lack et al., 2010; Lack y Van Den Bussche, 2010; Platt et al., 2018). Los datos moleculares obtenidos en muestras más grandes de individuos permitieron saber que, aunque la elevada tasa de evolución dentro de la familia Vespertilionidae no aclara las relaciones filogenéticas, esto no es así en el género *Myotis* y la subfamilia Myotinae, ya que presenta una tasa más lenta, proponiendo que las relaciones dentro de esta subfamilia se pueden resolver por completo si se usan conjuntos de datos genéticos de más especies (Lack et al., 2010; Lack y Van Den Bussche, 2010). Esta tasa lenta de evolución es por la baja rotación de especies en un gradiente altitudinal cercano a la línea ecuatorial, debido a que en los trópicos las especies se mantiene cercanas a su capacidad de carga, por lo que existen pocas oportunidades de una especiación rápida (Lack et al., 2010). El estudio más reciente sobre el género *Myotis*, estuvo a cargo de Platt y colaboradores en el 2017. En esta investigación, las filogenias resultantes, fueron conflictivas entre los datos nucleares y mitocondriales, con eventos que oscurecen la topología de los árboles como la hibridación entre distintas especies. Por lo que se concluye que se necesita una revisión de varios clados, especialmente, el que se encuentra conformado por especies de murciélagos neotropicales (*M. keaysi*, *M. oxyotus*, *M. ruber*, *M. riparius* y *M. diminutus*).

3.2.Historia geográfica de *Myotis* en Sudamérica

La diversificación actual de *Myotis* en la región sudamericana pudo estar relacionada con la presencia de especies cercanas al género *Myotis* en América del Norte a finales del Mioceno (Ruedi y Mayer, 2001). Estudios más recientes sugieren que la diversificación del género *Myotis* y de la familia Vespertilionidae corresponde a la transición entre el Eoceno-Oligoceno hace aproximadamente hace 32 millones de años (Ma.) (Lack et al., 2010). Esta diversificación y algunos registros fósiles de Vespertilionidae en la región sudamericana sugieren que tal vez la radiación de esta familia ocurrió antes del Mioceno tardío, antes de la formación del istmo de Panamá y el Gran Intercambio Biótico Americano (GABI, por sus siglas en inglés) (Czaplewski, Takai, Naeher, Shigehara y Setoguchi, 2003; Morgan y Czaplewski, 2012). La diversificación del género *Myotis* en Sudamérica ocurrió durante el Plioceno, muchas de las especies orientales y occidentales pudieron estar encontrándose en el proceso de elevación de la Cordillera de los Andes durante el Plioceno temprano, que aproximadamente hace 4 Ma. llegó a su elevación actual, separando a las especies (Coltorti y Ollier, 2000). Existen casos que previamente se han registrado en otras familias de murciélagos, como Phyllostomidae, donde la Cordillera de los Andes ha actuado como una barrera limitante que separa a las especies. En estos casos inicialmente se pensó que individuos occidentales y orientales correspondían a la misma especie, pero se demostró que la especiación de cada una ocurrió independiente a cada lado de la barrera geográfica, separándolas en dos especies distintas (Koopman, 1978; Patterson, Pacheco y Ashley, 1992; Hoffmanz y Baker, 2001; Hoffman y Baker 2003; Basantes, 2019). Estudios en murciélagos neotropicales han permitido conocer que el gran número de especies crípticas se encuentran bajo el nombre de otra especie a la que no corresponde, por lo que existe una gran diversidad escondida (Wilson y LaVal, 1974; Clare, 2011; Moratelli, Gardner, De Oliveira y Wilson, 2013).

Debido a que los individuos corresponden a la familia Phyllostomidae, los caracteres morfológicos que diferencian a cada una de las especies son más evidentes que en el caso de la familia Vespertilionidae, donde la diferenciación entre especies utilizando caracteres morfológicos es casi imposible, debido a que se tratan de un conjunto de especies crípticas (Bickford et al., 2007). Estudios en murciélagos neotropicales han permitido conocer que el gran

número de especies crípticas se encuentran bajo el nombre de otra especie a la que no corresponde, por lo que existe una gran diversidad escondida (Bickford et al., 2007; Clare, 2011; Fišer, Robinson y Malard, 2018).

3.3. *Myotis* en Sudamérica y Ecuador

Actualmente se reconocen 24 especies de *Myotis* en Sudamérica, de las cuales *M. albescens*, *M. keaysi*, *M. nigricans* y *M. riparius* tienen amplias distribuciones (Gardner, 2008; Wilson y Mittermeier, 2019). En el Ecuador, el género *Myotis* está distribuido en todos los pisos climáticos, a excepción de las islas Galápagos (Tirira, 2017). Se encuentran distribuidos en un rango de 0 a 3340 msnm (Tirira, 2017). En el país se encuentran registradas ocho especies: *M. albescens*, *M. caucensis*, *M. diminutus*, *M. keaysi*, *M. nigricans*, *M. oxyotus*, *M. riparius* y *M. simus* (Tirira, 2018).

Dos especies particularmente conflictivas son *M. nigricans* y *M. albescens*, en las que se han reconocido 12 linajes intraespecíficos, aunque con cierta discordancia entre la comparación de árboles filogenéticos con datos nucleares y mitocondriales debido a que la radiación del género puede estar relacionada con altos niveles de hibridación (Platt et al., 2018).

Myotis nigricans es una de las especies más estudiadas del género que, con base en los datos morfológicos y moleculares, es un complejo de especies crípticas no descritas (Wilson y Mittermeier, 2019). Desde su descripción, se ha evidenciado que esta especie presenta una amplia distribución en el Neotrópico, alejada de su localidad tipo (Larsen, et al., 2012a); sin embargo, los datos moleculares no respaldan que los individuos que se encuentran distribuidos en Centroamérica y en el norte de Sudamérica están emparentados con individuos de *M. nigricans* de la región tipo de Brasil (Moratelli et al., 2013; Larsen et al., 2012b).

Recientes revisiones han resultado en la descripción de nuevas especies como *M. lavali* (Moratelli et al, 2011), *M. diminutus* (Moratelli y Wilson, 2011), *M. handleyi* (Moratelli et al., 2013), *M. attenboroughi* (Moratelli et al., 2017) y *M. clydejones* (Wilson y Mittermeier, 2019),

así como en la elevación de subespecies a nivel específico como *M. caucensis* (Moratelli et al., 2013). Tras dichas revisiones, se reconocen cuatro subespecies para *M. nigricans* (*M. n. nigricans, M. n. carteri, M. n. extremus* y *M. n. osculatti*) que se distribuyen, en conjunto, desde la Costa Pacífica de México, desde Nayarit y Michoacán, a través de Centroamérica hasta Sudamérica, hasta aproximadamente los 26°S, incluyendo Trinidad y Tobago (Wilson y Mittermeier, 2019).

Una de las especies de las cuales se desconoce la variación morfológica y la relación sistemática con el resto de las especies de *Myotis* descritas anteriormente es *Myotis diminutus*. Esta especie fue descrita por Moratelli y Wilson en 2011 y se encuentra registrada para la región de bosque húmedo tropical de la Costa ecuatoriana. El holotipo fue recolectado por el científico Don E. Wilson en 1979 en el Centro Científico Río Palenque en la provincia de Los Ríos. Este individuo es un macho subadulto y se encuentra depositado en el Museo de Historia Natural de Washington (USNM). Esta nueva especie fue diagnosticada como muy parecida a *M. nigricans*, pero de tamaño menor; de ahí su nombre. El segundo registro de *Myotis diminutus* fue reportado por Moratelli y Wilson en 2015 con base en un espécimen hembra depositado en la colección de mamíferos del Museo de Historia Natural de Los Ángeles (LACM), recolectado en 1959 en La Gayacana, Colombia, donde, además, se encontraron especímenes de *M. nigricans* de la misma localidad, lo que indica que habitan en simpatría. De igual manera, datos de colección sugieren la presencia de *M. nigricans* en la localidad tipo de *M. diminutus* en Ecuador.

3.4.El bosque del Chocó ecuatoriano

El bosque tropical del Chocó se encuentra a unos 300 msnm, ubicándose desde las zonas bajas de las cuencas de los ríos Cayapas y Esmeraldas, hasta la cuenca húmeda de Guayas (Ministerio de Ambiente, 2013). El clima predominantemente es húmedo, comprendiendo las zonas de Bosques siempreverde y Siempreverde estacional de tierras bajas (López, Sierra y Tirado, 2010; Ministerio de Ambiente, 2013). Una de las zonas más amenazadas comprende la región Tumbes Chocó-Magdalena, que es considerada como una fuente de endemismo gracias a que es un punto caliente de biodiversidad con más de 160 especies de mamíferos (Myers,

Mittermeier, Mittermeier, Da Fonseca y Kent, 2000; Tirira, 2020). El gran problema de conservación de esta región está asociado a las actividades antropogénicas que se desarrollan en la zona (Rival, 2004). Las principales causas para la pérdida de hábitat en la región de Chocó y de la Costa ecuatoriana se relacionan con la agricultura y la deforestación de los bosques para fines agrarios (Poore y Nemecek, 2018). En el Ecuador se conoce que, para el 2001, unas 225 000 hectáreas fueron deforestadas y, aproximadamente, el 20 % de la fauna de estos bosques estaba amenazada (CEPF, 2001). A partir del 2015, los datos muestran que el 95 % de los bosques tropicales de la Costa han sido destruidos y esta deforestación aumenta un 5 % anualmente (Ministerio de Ambiente del Ecuador, 2015).

3.5. Formulación del problema

En Ecuador, el género *Myotis* ha sido medianamente estudiado y cabría esperar que sus poblaciones correspondan a diferentes especies de acuerdo con lo sugerido por Wilson y Mittermeier (2019). Debido a la alta cripticidad entre las especies de este género, las identificaciones morfológicas resultan difíciles, por lo que existen muchas identificaciones erróneas dentro de las colecciones de los museos. Este problema se ha presentado frecuentemente, en especial con individuos que se encuentran identificados bajo *M. nigricans.* Un claro ejemplo son los especímenes de *M. diminutus* erróneamente identificados y cuyo estatus como especie válida ha sido cuestionado porque la descripción se hizo a partir de un solo ejemplar subadulto, práctica taxonómica que suele no ser alentada porque no se puede evidenciar la variación morfológica de la especie (Haarsma, 2008; Sánchez, 2017). La localidad tipo de esta especie está ubicada en un parche de bosque primario en la provincia de Los Ríos-Ecuador, específicamente en el Centro Científico Río Palenque. El segundo registro que se tiene de *Myotis diminutus*, es de una hembra adulta en Colombia y su diferenciación morfológica con respecto al holotipo es clara. (Moratelli y Wilson, 2015). Esta variación evidencia que el holotipo presenta un tamaño del cráneo (CRI / índice craneal) más pequeño que el segundo registro. Además, difieren en el tamaño del pelaje dorsal y ventral.

Myotis diminutus fue descrita con base en caracteres morfológicos y morfométricos, cuyas variables se compararon con otras especies de la región ecuatoriana como *M. albescens*, *M. oxyotus*, *M. riparius* y *M. nigricans*. A partir esta comparación se determinó que *M. nigricans* está cercanamente relacionada con *M. diminutus* debido a que presentaban variables muy similares, pero difieren en que *Myotis diminutus* tiene un cráneo más estrecho que *M. nigricans*, además del color del pelaje que es ligeramente distinto entre estas dos especies.

Otro conflicto entorno a *M. diminutus* es que posiblemente se encuentre en simpatría con otras especies del género *Myotis*. Esta situación complicaría la identificación de la especie en el campo, además que, al ser especies tan similares, los procesos de especiación pueden estar relacionados a variaciones geográficas y climáticas (Tirira, 2017; Moratelli et al., 2013). Los análisis moleculares entorno a *M. diminutus* y otras especies de la Costa ecuatoriana han señalado que no presentan relaciones monofiléticas por lo que varias veces se ha sugerido hacer una reevaluación molecular de estas especies (Platt et al, 2018).

En este trabajo se evalúan las relaciones filogenéticas y el estado taxonómico de *Myotis diminutus* mediante el análisis de datos moleculares, morfológicos y morfométricos que aporten a entender las relaciones evolutivas de este complejo de especies.

3.6.Justificación de la investigación

Las variaciones morfológicas y la presencia de caracteres diagnósticos discretos entre las especies del género están poco o mal definidas, por lo que identificaciones erróneas de ejemplares en colecciones científicas son frecuentes (Novaes et al., 2018). De ahí la importancia de las colecciones científicas que proporcionan información válida para monitorear a las especies, observar variaciones fenotípicas entre especies crípticas, comprender su distribución y tener el porcentaje de riesgo de extinción, que a veces es difícil de evaluar (Rocha et al., 2014).

En el Ecuador, las regiones de bosque primario en la Costa son una de las más afectadas y en peligro de desaparecer, por la presencia de actividades antropogénicas (Poore y Nemecek,

2018). Esta región es una de las más amenazadas de Ecuador, debido a los altos porcentajes de tala y caza ilegal, por lo que la mayoría de los bosques primarios de tierras bajas han desaparecido (Jahn, 2011). Uno de los parches con importancia científica, debido a que es un parche de bosque primario que tiene una alta cantidad de especies es el Centro Científico Río Palenque (Leck, 1979). En este bosque se encuentra la especie *Myotis diminutus* y, de lo que se conoce hasta ahora, solo ocurre en este lugar y en la región sur de Colombia. Esta distribución se basa en los únicos dos registros de la especie (Moratelli y Wilson, 2011, Moratelli y Wilson, 2015).

En ausencia de más información no es posible determinar el estado de conservación de *Myotis diminutus* ya que se encuentra dentro de un género con un gran crípticidad entre las especies por lo que la identificación es difícil. Con estos antecedentes, ese hace necesario obtener un conocimiento más profundo sobre la especie, lo que permitirá conocer si se encuentra amenazada o no, y si es necesario adoptar medidas para su conservación. Además, la nueva información sobre *M. diminutus* permitirá contribuir a futuras investigaciones sobre el género, aclarando las relaciones evolutivas y biogeográficas con otras especies (Bradley y Baker, 2001; Platt et al., 2018).

3.7.Objetivos

Objetivo General:

Evaluar las relaciones filogenéticas y el estado taxonómico de *Myotis diminutus* mediante el análisis de datos moleculares, morfológicos y morfométricos que ayuden a esclarecer su estado taxonómico actual.

Objetivos Específicos:

- Determinar la ubicación filogenética de *Myotis diminutus* dentro del género, por información moleculares y morfológica.
- Confirmar la validez del estado taxonómico de *Myotis diminutus*.
- Enmendar la descripción actual de *M. diminutus* utilizando datos de una serie numerosa de ejemplares museológicos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.Revisión e identificación de especímenes

En total se analizaron 80 especímenes de cinco especies del género *Myotis* (*M. diminutus, M. nigricans, M. albescens, M. oxyotus* y *M. riparius*). En la descripción de *M. diminutus*, se utilizó a estas cuatro especies (*M. nigricans, M. albescens, M. oxyotus* y *M. riparius*) para comparar los caracteres morfológicos y morfométricos. Así que se utilizó las mismas especies para que los resultados sean comparables con otros estudios.

Los especímenes se encontraban preservados en fluido (etanol al 75 %), pieles y esqueletos secos, en las colecciones de historia natural en las siguientes instituciones:

QCAZ: Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.

MEPN: Museo de Historia Natural Gustavo Orcés-V., Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador.

TTU: Museo de la Universidad Texas Tech. Texas, Estados Unidos.

FMNH: Museo Field de Historia Natural. Chicago, Estados Unidos.

AMNH: Museo Americano de Historia Natural. NewYork, Estados Unidos.

USNM: Museo Nacional de Historia Natural (Instituto Smithsoniano). Washington DC., Estados Unidos.

CM: Museo C.M. Russell. Montana, Estados Unidos.

LACM: Museo de Historia Natural de Los Ángeles, Estados Unidos.

Se usó la clave de identificación propuesta por Díaz y colaboradores (2016) para reidentificar el género de los especímenes. Además, para la correcta identificación de los especímenes almacenados en los distintos museos, se utilizó las claves de identificación propuestas por Moratelli y colaboradores (2011). Para identificar taxonómicamente los ejemplares se revisó la posición y tamaño de los premolares, además de otras características craneales como la presencia de crestas occipitales, sagital y la longitud total del cráneo. Se

buscaron características distintivas externas tales como la coloración del pelaje, la longitud de los pelos dorsales y ventrales y la longitud total del antebrazo. Como datos fundamentales se consideró la localidad donde fue recolectado el individuo, altitud, la fecha de recolección, el sexo, la edad e información ecológica.

Se verificó el estado de madurez de los individuos depositados en los diferentes museos, categorizando nuevamente la edad. Se tomó en cuenta características morfológicas como el desgaste de las superficies dentales y la osificación de la epífisis de las falanges (Haarsma, 2008). Finalmente, solo se escogieron los individuos adultos, con el fin de evitar errores estadísticos en nuestros análisis multivariados (Jüngers, Falsetti y Wall, 1995; Sánchez, 2017).

4.2.Análisis moleculares

4.2.1. Extracción y secuenciación de ADN

El ADN mitocondrial fue extraído de tejido muscular y hepático, usando el protocolo de extracción de tiocianato de guanidina usado en el Laboratorio de Biología Molecular del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Las condiciones térmicas siguieron a las de Stadelmann (2007) y Larsen y colaboradores (2012). Se trabajó con el gen mitocondrial Citocromo b, por ser uno de los genes más secuenciados para distintas especies de murciélagos, lo que permite hacer comparaciones; además, es muy informativo para las comparaciones a niveles de divergencia de especies hermanas y congéneres (Meyer 1994; Johns y Avise, 1998). La información de este gen es únicamente matrilineal, no mendeliana, que conjuntamente con las elevadas tasas de homoplasia y las altas tasa de mutación, permite conocer las reconstrucciones filogenéticas (Brown, 1980; Kälersjö, Albert y Farris, 1999). Además, existe un gran número de copias por mitocondria, por lo que es óptimo para el material genético degradado o escaso (Schon, 2000).

En el presente estudio se usó cebadores o *primers* externos e internos para la amplificación del ADN. Los cebadores externos usados para la amplificación de gen mitocondrial fueron: glo7L, glo6H, L14724 y H15915; mientras que los cebadores internos fueron: Myo250F,

Myo450F, Myo500R, Myo650F, Myo1L, MVZ04, G7LHK, EpH520R y Myo2F. El ciclo de secuenciación fue realizado por Macrogen Inc.

Además de las secuencias extraídas, se utilizó información de Ruedi y Mayer (2001), Kawai y colaboradores (2003), Stadelmann y colaboradores (2007) y Larsen y colaboradores (2012 a, b) disponibles en el portal de información genética GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), donde se utilizó la información molecular de secuencias que corresponden a distintas localidades de la Costa ecuatoriana y de algunas otras localidades sudamericanas (Anexo 2). En total, se analizó secuencias de 32 especies distribuidas en varias localidades de Centro y Sudamérica. Esta información permite tener una reconstrucción topológica más exacta para los árboles filogenéticos. Adicionalmente, se usó la secuencia de Citocromo b con número de acceso de GenBank AF376864 correspondiente a un ejemplar identificado como *M. nigricans* –localidad: Paraiba, Brasil (Ruedi y Mayer, 2001), cercano a la localidad tipo donde se describió esta especie.

Las secuencias fueron extraídas del GenBank, mediante el programa R (R Core Team, 2018) con la ayuda de los paquetes “ape” y “seqinr”. Este programa permitió organizar las secuencias en una sola matriz en formato fasta, el cual es necesario para comenzar la edición de las secuencias.

4.2.2. Alineamiento y edición de secuencias

Los datos fueron ensamblados con el programa Genious v5.4.6 (Kearse et al., 2012) y alineados con la herramienta MAFFT Múltiple Alineamiento (Katoh y Toh, 2010). Con la ayuda del programa Mesquite se alineó las secuencias para evitar el aparecimiento de codones stop, además se usó un código de nomenclatura para ácidos nucleicos polimórficos (IUPAC) para evitar colocar una base erróneamente y que afecte el marco de lectura (Johnson, 2010). Los grupos externos corresponden a *Myotis brandtii*, una especie distribuida en la zona central y norte de Europa y a *Myotis gracilis* de la región asiática, siguiendo el mismo protocolo de Larsen et al. (2012a, b). Estas especies no se encuentran estrechamente relacionadas con las especies

sudamericanas, por ser del Viejo Mundo, pero su información permite recuperar la estructura del género y producir una adecuada topología (Wilberg, 2015).

Con la matriz de secuencias alineadas, se procedió a escoger el mejor modelo de sustitución de nucleótidos. Los mejores modelos y esquema de partición fueron seleccionados usando el programa PartitionFinder v2.1.1 (Lanfear, Calcott, Ho y Guindon, 2012), bajo los criterios de información bayesiana. Este programa, mediante modelos de sustitución de nucleótidos, permite elegir adecuadamente el modelo evolutivo que se ajusta a las secuencias permitiendo generar una mayor precisión al momento de la reconstrucción filogenética (Lanfear et al., 2012). Los modelos para cada codón fueron: (i) primera posición del codón K80 + I + G; (ii) segunda posición del codón HKY + I + G; y (iii) tercera posición del codón GTR + I + G.

4.2.3. Análisis filogenéticos de Inferencia Bayesiana y de Máxima Verosimilitud

Los análisis de inferencias filogenéticas se realizaron bajo los criterios de Inferencia Bayesiana (IB) y Máxima Verosimilitud (MV). Los dos criterios se llevaron a cabo a través del portal de ciencia CIPRES (Miller, Pfeiffer y Schwartz, 2010). El IB se llevó a cabo usando MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Se realizaron dos corridas independientes (cada una con cuatro cadenas MCMC) simultáneamente durante 10 000 000 de generaciones, con muestreo cada 1000 generaciones y se descartó el 50 % de los árboles como *burn-in*. La convergencia de las cadenas resultantes bajo este criterio se analizó en el programa Tracer v1.5 (Drummond y Rambaut, 2009), bajo los intervalos de densidad posterior (> 95 % HDP) y los tamaños de muestra efectivos (ESS > 200). Los árboles restantes del IB se utilizaron para calcular las probabilidades posteriores del árbol consenso usando la regla mayoritaria que analiza los grupos o divisiones que aparecen en más de la mitad de los árboles (Bryant, 2003). El árbol consenso fue obtenido por el programa MESQUITE 3.0 (Maddison y Maddison, 2018) y los nodos con probabilidades posteriores mayores a 95 % fueron considerados como con alto soporte.

El MB se realizó mediante el programa RAxML v.8 (Stamatakis, 2014). Se utilizaron los parámetros por defecto del programa para el modelo GTR ya que aumenta su eficacia. El soporte fue evaluado usando 100 réplicas de bootstrap. La visualización y edición de los árboles

de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud, se realizó en el programa FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2009).

4.2.4. Distancias genéticas

Las distancias genéticas se analizaron usando el programa MEGA 7 (Tamura, Stecher, Peterson, Filipski y Kumar, 2013) y se utilizó el modelo Kimura-2 parámetros (K-2P) (Kimura, 1980). El modelo (K-2P) toma en cuenta qué tan probable es observar un mayor número de transiciones que transversiones, dentro de nuestra matriz de secuencias (Srivathsan y Meier, 2012). Además, se usó este modelo porque ha sido ampliamente usado en otros estudios con el género *Myotis*. Las distancias genéticas se analizaron bajo el criterio de Bradley y Baker (2001); estos investigadores analizaron las distancias genéticas en dos grupos grandes de mamíferos como Chiroptera y Rodentia. Los autores sugieren que para Chiroptera, los porcentajes superiores a 3 % apoyan a la conclusión de que las especies son distintas. Dentro de este rango, porcentajes que van entre 3-7 % se puede considerar como especies hermanas. Mientras, que porcentajes mayores a 10 % se pueden considerar como variaciones intragenéricas.

4.3. Análisis de variables cuantitativas

4.3.1. Descriptivos de las variables morfométricas

Para el análisis de las variables morfométricas se registraron 16 medidas cráneo-dentales y cuatro corporales con un calibrador digital con precisión de 0.01 mm, siguiendo el protocolo de Moratelli y colaboradores (2013; Tabla 1).

Tabla 1. Medidas cráneo-dentales y corporales. Definición de 20 medidas cráneo-dentales y cuatro corporales. Tomado de Moratelli et al (2013).

Variables morfométricas		
Medida	**Nombre/ Name**	**Definición**
GLS	Longitud del cráneo / Greatest length of skull.	Distancia entre el vértice de los incisivos internos superiores y el occipital.
CCL	Longitud cóndilo-canino / Condylocanine length.	Distancia entre la superficie anterior de los caninos superiores y una línea que conecta los cóndilos occipitales.
CBL	Longitud cóndilo-basal / Condylobasal length.	Distancia entre el premaxilar y una línea que conecta los cóndilos occipitales.
CIL	Longitud cóndilo-incisivo / Condyloincisive length.	Distancia entre el vértice de los incisivos internos superiores y una línea que conecta los cóndilos occipitales
BAL	Longitud basal / Basal length.	Es la menor distancia entre el vértice de los incisivos internos superiores y el margen ventral del foramen magnum.
ZB	Ancho zigomático / Zygomatic breadth.	La mayor amplitud a través de los márgenes exteriores de los arcos cigomáticos.
MAB	Ancho del mastoideo / Mastoid breadth.	Distancia máxima a través del cráneo, incluyendo los procesos mastoideos.
BCB	Ancho de la caja craneal / Braincase breadth.	La mayor amplitud de la parte globular del cerebro.
IOB	Longitud de la región interorbital / Interorbital breadth.	La menor amplitud entre las órbitas.
POB	Amplitud postorbital / Postorbital breadth.	La menor amplitud a través de los frontales posteriores a las protuberancias postorbitales.
BAC	Amplitud a través de los caninos / Breadth across canines.	La mayor amplitud a través de los bordes exteriores de las coronas de los caninos superiores, incluidas las cínulas.

Variables morfométricas		
Medida	**Nombre/ Name**	**Definición**
BAM	Amplitud a través de los molares / Breadth across molars.	La mayor amplitud a través de los bordes exteriores de las coronas de los molares superiores.
MTL	Longitud de los dientes de la maxila / Maxillary toothrow length.	Distancia entre el canino superior al tercer molar.
M13	Longitud de los molariformes / Molariform toothrow length.	Distancia entre el primer y el tercer molar.
MAL	Longitud de la mandíbula / Mandibular length.	Distancia entre la sínfisis mandibular y el proceso condiloide.
MAN	Longitud de los dientes de la mandíbula / Mandibular toothrow length.	Distancia entre el canino inferior y el tercer molar.
FA	Longitud del antebrazo / Length of forearm.	Mayor distancia entre la extremidad proximal del hueso sesamoideo y la extremidad distal de los carpos cuando el ala está plegada.
3ML	Longitud del metacarpiano III / Metacarpal III length.	Distancia máxima del tercer metacarpiano cuando se dobla el ala.
LDH	Longitud de los pelos dorsales / Length of the dorsal hairs.	Distancia entre la base y el ápice del cabello en la piel entre las escápulas.
LVH	Longitud de los pelos ventrales / Length of the ventral hairs.	Distancia entre la base y el ápice del cabello en medio del tórax.
CRI	Índice craneal/ Cranial index	CRI= (((IOB + BCB) x GLS) /2)
MXI	Índice maxilar/ Maxillary index	MXI= (((BAC + BAM) x MTL) /2)

Para evitar un error causado por la diferencia en los valores, se repitió tres veces cada medición en cada individuo y se trabajó con el promedio (Peña, 2002; Sánchez, 2017). Los valores obtenidos de las mediciones para cada variable se organizaron en una matriz de datos que contiene, para cada ejemplar, el número de museo, especie, sexo, altitud, coordenadas geográficas, datos ecológicos y datos cualitativos (color de pelaje, así como caracteres discretos del cráneo). Se obtuvieron medidas de tendencia central como la media, desviación estándar y valores máximos y mínimos. Posteriormente, con esta matriz de datos se utilizaron pruebas multivariadas que permiten observar las relaciones entre cada una de las variables de nuestro conjunto de datos de manera general (Johnson y Wichern, 2007), además de cuantificar dichas relaciones y encontrar diferencias que pueden ser significativas entre los grupos (Mushtaq y Khan, 2012; Muñoz, 2016).

4.3.2. Análisis estadísticos de las variables

Como primer paso, se evaluó la ocurrencia de datos faltantes para cada variable que pueden ocurrir como consecuencia de mediciones no tomadas para algunas estructuras craneales o corporales por estar incompletas o porque algunos especímenes presentaban estructuras incompletas o destruidas. Para prevenir que estos datos faltantes afecten las pruebas multivariadas y evitar la eliminación de especímenes de nuestro conjunto de datos, se realizó un análisis de correlación entre las variables y, de encontrar correlación, se eliminó la variable con los datos faltantes (Luzzatto, 2019). Adicionalmente, se identificaron los valores atípicos del conjunto de datos. Los valores extremos (valores atípicos), son observaciones diferentes a la mayoría en el conjunto de datos (Hair, 1995); estos valores atípicos pueden manifestar una variación en las observaciones y es recomendable no eliminarlos ya que se puede afectar la distribución de los datos (Fortini y Luko, 2011)

Para proceder con los demás análisis multivariados, se sometieron las variables a una prueba de adecuación muestral, que permite saber si los datos se ajustan a un modelo de análisis factorial (Kim y Mueller, 1978). En este caso, se usó la prueba de multicolinealidad de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO). Esta prueba presenta un valor MSA (Valor de adecuación de muestra, por sus siglas en inglés), que representa un umbral de adecuación que varía entre 0 y 1, valores que

van entre 0.80 a 0.90 permiten respaldar las diferencias entre las correlaciones parciales y la correlación cero, por lo que es aceptable continuar con las demás pruebas factoriales como el ACP (Holand, 2008; Munro, 2005). Los valores menores a 0.5 señalan que no es recomendable seguir los análisis factoriales con los datos que se están utilizando ya que el ACP no será lo suficientemente relevante (Wold, Esbensen y Geladi, 1987). Esta prueba se realizó en el programa R v.3.4.4. (R Core Team, 2018).

Se realizó una regresión lineal por cada variable obtenida del análisis de correlación. La regresión lineal simple permite explicar la relación que existe entre dos variables, una variable respuesta (eje X) y otra variable explicativa (eje Y). En este caso, como variable explicativa, se utilizó a la medida que corresponde a la longitud máxima del cráneo (GLS), con la que se comparó al resto de variables. Adicionalmente, se utilizaron los residuales de la regresión linear. Los residuales o residuos, permiten medir la variación individual del conjunto de datos, analizando las perturbaciones (Corruccini, 1987). Los residuos se utilizaron en los demás análisis estadísticos multivariados como el Análisis de Componentes Principales (ACP) o el Análisis de Discriminante. El uso de los residuos en los estadísticos facilita ajustar las variables relacionadas a la forma, reduciendo el efecto del tamaño en el conjunto de datos (Jüngers et al., 1995).

4.3.3. Análisis de Componentes Principales (ACP)

El análisis de componentes principales o ACP, es una técnica de estadística multivariada que permite detectar las relaciones entre las variables que a simple vista son poco evidentes y lo realiza a partir de la varianza de los datos (Hyvärinen, 2015). Este análisis evalúa las relaciones entre las variables, reduciéndolas a un número menor, conocidas como componentes principales (Jollife y Cadima, 2017). El ACP encuentra una serie de combinaciones lineales de cada variable analizando la variación máxima y verificando que no estén relacionadas entre ellas (Galar y Kumar, 2017). Estos modelos estadísticos se realizaron en el software PAST (Hammer, Harper y Ryan, 2001) y en el programa R v.3.4.4. (R Core Team, 2018).

Luego de la prueba de ACP es necesario determinar *a priori* un número de agrupaciones posibles en nuestro conjunto de datos. Para este fin se utilizó el agrupamiento del paquete *NbClust* del programa estadístico *R* (R Core Team, 2018). Se aplicó el método estadístico conocido como NbClust, que es una función del programa estadístico *R* que calcula, a partir de los datos originales, aproximadamente 30 índices que permiten conocer el número de grupos adecuados que se adapta a los datos, utilizando el método K-means (Holand, 2008; Charrad, Gazzali, Boiteau y Niknafs, 2014). Estos índices analizan la varianza en relación con distintos números de grupos (Syakur, Khotimah, Rochman y Satoto, 2018). Además, miden mediante la similitud entre los datos y los clústeres, el número de grupos adecuados, utilizando las distancias entre cada punto de datos de su propio grupo y los compara con los valores de los grupos cercanos (Wang et al., 2017; Yuan y Yang, 2019). Este método de agrupamiento se escogió debido a su eficacia, ya que revela de mejor manera el mejor criterio para agrupar los datos del set original.

4.3.4. Agrupamiento de especies

Una vez obtenido el número óptimo de grupos, se utilizó el agrupamiento K-means que permite identificar grupos homogéneos al agrupar a un número determinado de individuos en un determinado grupo *K*, basándose en ciertas características que pertenecen a los individuos (Peña, 2002). Al ser un método estadístico multivariado combina un modelo normal con métodos probabilísticos según las medias, las covarianzas y las probabilidades de muestreo de cada grupo (Morissette y Chartier, 2013). Se clasificó los datos según el número óptimo de grupos que resultó igual al número de las cinco especies de *Myotis* identificadas: *M. diminutus*, *M. nigricans*, *M. albescens*, *M. oxyotus* y *M. riparius*.

Debido a que muchos estudios previos de *Myotis*, especialmente la descripción de *M. diminutus*, se utilizó análisis discriminante (AD) para observar patrones de variación morfológica entre las especies que se midieron. En este estudio se usó también AD para que los datos obtenidos sean comparables con otros estudios. Este análisis, permite transformar las características de las observaciones a un espacio bidimensional para maximizar las medidas estadísticas de valor medio y varianza, obteniendo una separabilidad confiable de los datos (Xanthopoulos, Pardalos y Trafalis, 2012; Tharwat, Gaber, Ibrahim y Hassanien, 2017). Las ventajas que brinda este análisis

es resolver de una manera rápida y eficaz, analizando si existe una diferencia significativa entre los grupos (Tharwat et al., 2017).

4.4. Análisis de las variables cualitativas

Se analizó la morfología y morfometría corporal y cráneo-dental en busca de diferencias que concuerden con los grupos definidos molecularmente. Además, se analizó la variación de color de pelaje con la paleta de colores de Ridgway (1912), la cual ha sido estandarizada en otros estudios de *Myotis* (Moratelli et al., 2013). El uso de esta paleta permite que nuestros datos sean comparables con otros futuros estudios.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis moleculares

5.1.1. Extracción y Secuenciación

Se obtuvieron en total 22 secuencias de *M. diminutus*, cuatro secuencias correspondieron a individuos de *M. diminutus* de la localidad tipo, las 18 secuencias restantes se obtuvieron de GenBank.

5.1.2. Análisis filogenéticos de Inferencia Bayesiana (IB) y de Máxima Verosimilitud (MV)

Los árboles resultantes de los análisis bajo los criterios de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB) develaron topologías disímiles entre sí, y que muchas relaciones dentro de cada clado difieren entre los dos criterios (Figs. 12–13). Las diferencias, en su mayoría, radican en los nodos más externos de las filogenias, mientras que las ramas más basales muestran una disimilitud menor.

Para analizar a estos árboles, se hizo hincapié en las especies presentes en la Costa del Ecuador y que pueden estar en simpatría con *M. diminutus* como son: *M. nigricans*, *M. albescens*, *M. riparius* y otras especies que se presentaron filogenéticamente cercanas a *M. diminutus.* En este caso se observó que la rama más basal que contiene al grupo de *M. albescens* difiere entre los dos criterios, ya que bajo Inferencia Bayesiana (IB) mostró un soporte alto (0.99), mientras que bajo Máxima Verosimilitud mostró un soporte no tan alto (73). Este tipo de resultado, donde el soporte para un criterio fue mayor que en otro, resultó común para el resto de las especies analizadas. En el caso del nodo basal que contiene al grupo *M. riparius*, para IB tuvo un soporte bajo (0.65) y alto para MV (100). Con *M. nigricans*, los dos criterios de IB (0.90) y MV (85) resultaron altos. Adicionalmente, para la especie de este estudio, *M. diminutus*, el soporte de IB (0.52) fue, mientras que para MV (75) fue alto. La diferencia entre estos dos criterios está relacionada a los algoritmos que rigen a cada modelo y caracteres ambiguos en las secuencias. El criterio de optimización de la Inferencia Bayesiana está sujeto a una búsqueda estocástica que calcula la probabilidad posterior, usando valores *a priori* de cada posible árbol y el modelo evolutivo que se utilice (Huelsenbeck, Ronquist, Nielsen y Bollback, 2001). Mientras que el criterio de Máxima Verosimilitud está sujeto a una búsqueda heurística robusta que obtiene el mejor árbol a partir de la maximización de la cantidad de cambios de las secuencias, de acuerdo con un modelo preestablecido (Huelsenbeck y Crandall, 1997). La inclusión de caracteres ambiguos dentro de las secuencias que se presentan como un sesgo topológico, interfieren en los valores y las topologías de los árboles obtenidos bajo distintos criterios; presentando un mayor impacto sobre la inferencia bayesiana por la interacción entre estos caracteres y las secuencias, por lo que estas variaciones entre las tasas no se ubican adecuadamente en los árboles (Lemmon, Brown, Stanger-Hall y Lemmon, 2009).

Las secuencias de algunos de los individuos que ahora se ubican en los árboles de MV e IB, dentro del clado de *M. diminutus*, se encontraban bajo el nombre de *M. nigricans*, *M. albescens* y *M. riparius*, debido a que se encontraban mal identificados; pero, con las secuencias de individuos de la localidad tipo, se pudo diferenciar a qué especie corresponden. Este caso ocurrió de manera similar para una secuencia de un individuo de la región de Venezuela extraído de Genbank (Larsen et al., 2012a) que estuvo identificado como *M. diminutus*, pero las relaciones filogenéticas mostraron que corresponde *M. handleyi*.

El árbol bajo el criterio de Inferencia Bayesiana (IB) (Figura 1) muestra un clado A que está altamente soportado (pp = 1). Este clado revela una politomía y abarca a cuatro especies: *M. diminutus* (individuos de Ecuador), *M. handleyi* (individuos de Venezuela), *M. nesopolus* (individuos de Perú), y tres individuos de dos especies que se encontraban mal identificadas como *M. nigricans*; pero, con los resultados de los árboles filogenéticos, se podría sugerir que pertenecen a otra especie aún no descrita y se los agrupó dentro del grupo de *Myotis sp.* Perú.

En el clado A, las relaciones taxonómicas muestran a *M. nesopolus* cercano a *Myotis sp*. de Honduras. De forma similar, los individuos de *Myotis sp*. de Perú están altamente relacionados a *M. nesopolus* y *M. handleyi*. Adicionalmente, se observó que *M. diminutus* está altamente soportada (pp= 0.98), y se presenta como hermana de *M. handleyi* con individuos del centro norte de Venezuela. El alto porcentaje de soporte que respalda a *M. diminutus* nos permite apoyar la validez de esta especie.

El árbol de IB muestra claramente que *M. diminutus* está significativamente separado de otras especies con las que se comparó morfológicamente, como en el caso de *M. riparius* y *M. albescens*. En estas especies, el soporte de probabilidades posteriores es bastante alto, correspondiendo a 1 en ambos casos. Las muestras de individuos de Ecuador que corresponden a *M. albescens* están relacionadas con individuos de Paraguay. En el caso de *M. riparius*, esta especie forma un clado monofilético donde se encuentran individuos de Ecuador que están relacionados con individuos de Venezuela, Brasil, Paraguay, Perú y Surinam.

También se observa que *M. nigricans* está alejada de *M. diminutus* y se encuentra mucho más cercano a *M. albescens*. A su vez, *M. nigricans* se encuentra cercanamente relacionado a *M. lavali*, aunque esto varió en el análisis de distancias genéticas que se discute más adelante.

Bajo el análisis IB, las relaciones filogenéticas de las especies se encuentran claras para las especies sudamericanas, aunque son mucho más dilucidadas para las especies centroamericanas. En una vista general, no se encuentran politomías a nivel de grandes clados, aunque sí están frecuentemente presentes dentro de individuos de una misma especie.

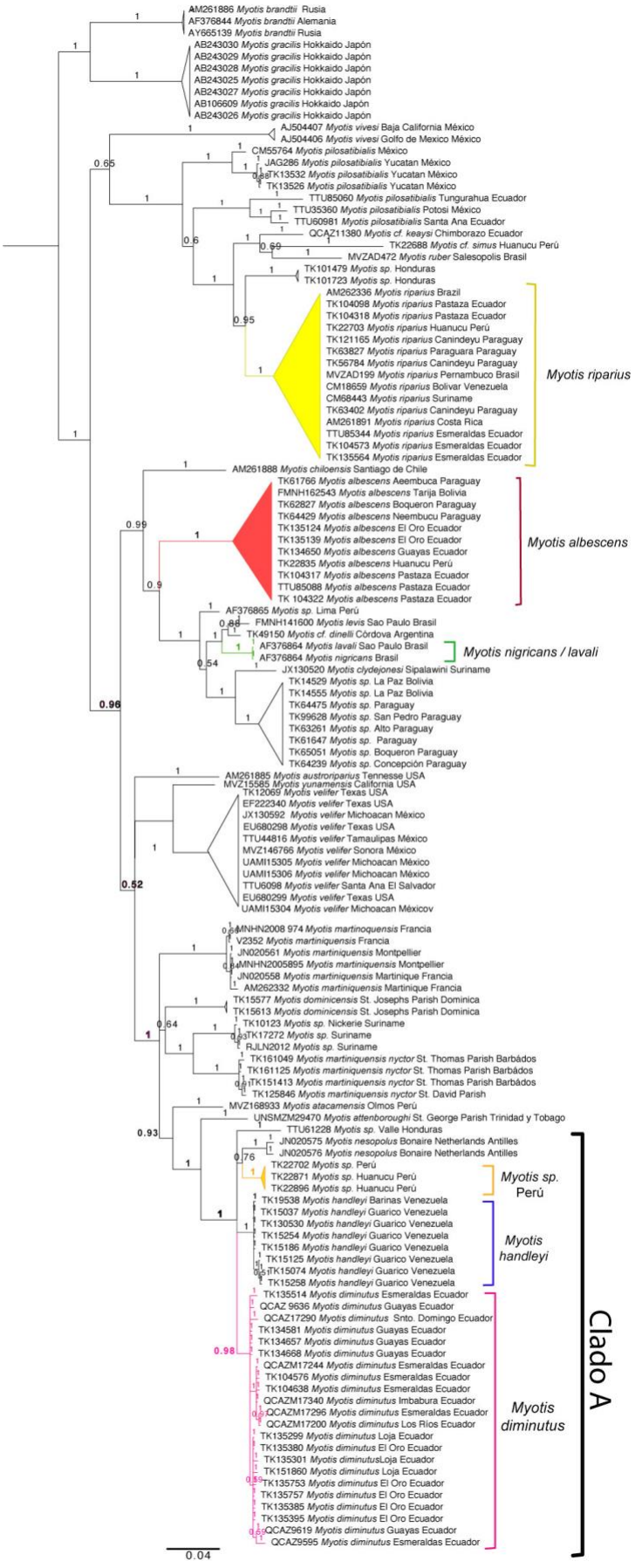


Figura 1. Filogenia bajo el criterio de Inferencia Bayesiana (IB). Árbol obtenido de alrededor de 1000 pb del gén mitocondiral Citocromo b. El Clado A muestra la región donde se ubicó *Myotis diminutus*, con especímenes de la localidad tipo y de otras localidades de la Costa ecuatoriana. La escala inferior indica la longitud de las ramas.

El árbol bajo el criterio de Máxima Verosimilitud (MV) (Figura 2) muestra un clado A que corresponde a las especies *M. diminutus* (individuos de Ecuador), *M. handleyi* (individuos de Venezuela), *M. nesopolus* (individuos de Perú) y cuatro individuos de especies que se encontraban mal identificadas bajo el nombre de *M. nigricans*, que corresponden a Perú y Honduras. La especie *M. diminutus* tiene un alto soporte (Bootstrap= 89) y se encuentra como hermana de *Myotis sp*. de Perú (Bootstrap= 100), aunque hay que tomar en cuenta que la raíz entre estas dos especies presenta un soporte bajo (Bootstrap= 43). Relacionado con este clado, que abarca a estas dos especies, se encuentra *M. handleyi*, *M. nesopolus* y un individuo de *Myotis sp*. Honduras. Al igual que con el caso anterior, presenta una raíz con un soporte bajo (Bootstrap= 31).

En el árbol existen agrupaciones denominadas como *Myotis* sp. que están cercanas a *M. diminutus*. La primera especie corresponde a individuos de Perú, que resulta ser especie hermana de *M. diminutus*, mientras que la segunda presenta a un individuo de Honduras, que es hermano de *M. nesopolus* de las Antillas Holandesas. La especie hermana de *M. diminutus*, con individuos peruanos, tiene un soporte alto (Bootstrap= 100). Por otro lado, la especie de *Myotis* sp. de Honduras presenta un soporte bajo (Bootstrap= 55). Dentro de la topología del árbol de Máxima Verosimilitud, vemos que las ramas primarias que comprenden las raíces de cada clado principal muestran valores de bootstrap altos; además, no se presentan politomías. Al igual que con el árbol formado a partir de la Inferencia Bayesiana, las politomías aparecen dentro de individuos que conforman una misma especie, aunque son menos frecuentes dentro de los análisis con Máxima Verosimilitud. En general, en ambos criterios, *M. attenboroughi* se presenta como un clado hermano del clado que contiene a la especie *M. diminutus*.

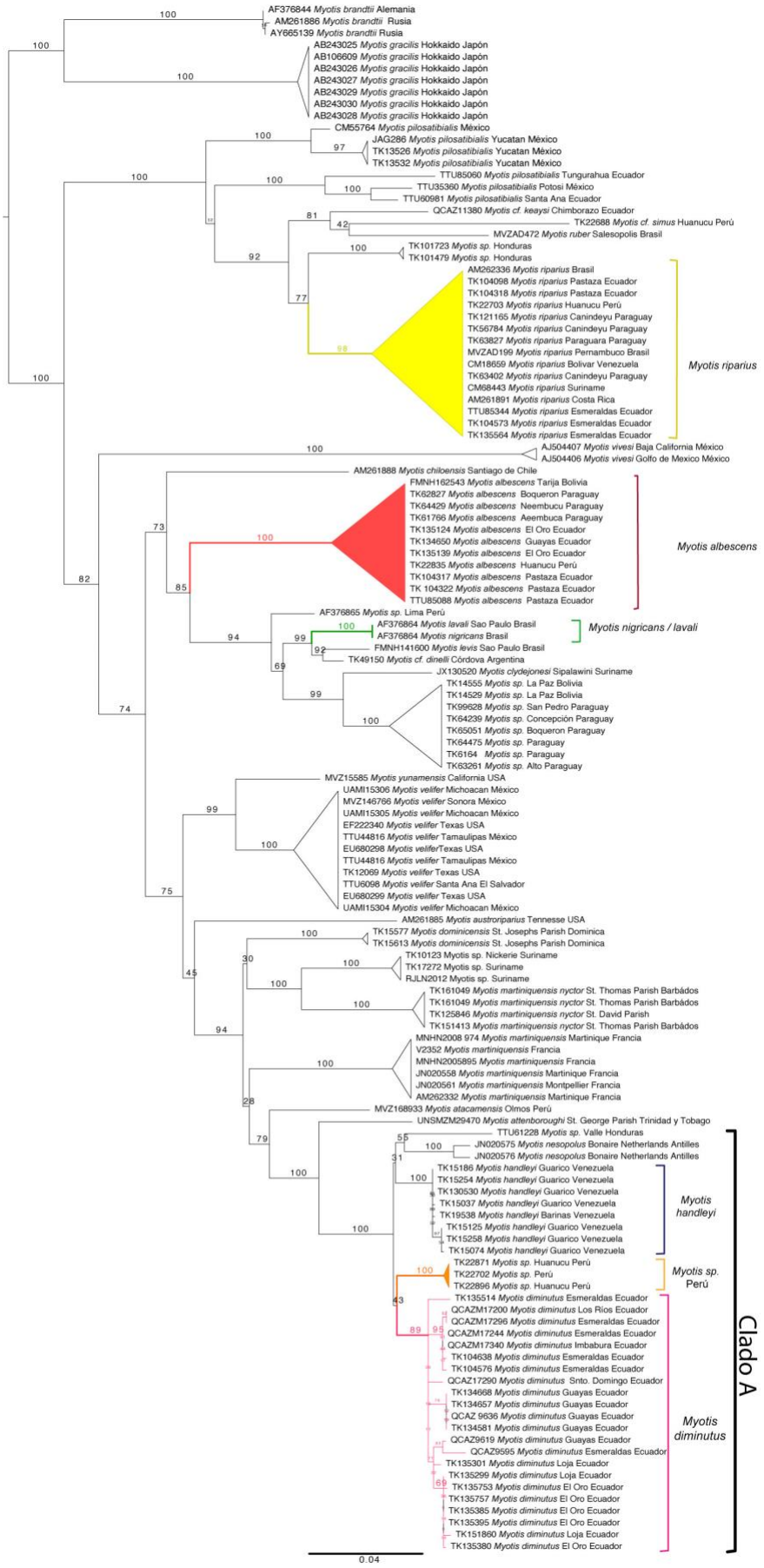


Figura 2. Filogenia bajo el criterio de Máxima Verosimilitud (MV). Árbol obtenido de alrededor de 1000 pb del gén mitocondiral Citocromo b. El Clado A muestra la región donde se ubicó *Myotis diminutus*, con especímenes de la localidad tipo y de otras localidades de la Costa ecuatoriana. La escala inferior indica la longitud de las ramas.

5.1.3. Distancias genéticas

En general, los porcentajes de las distancias genéticas entre especies son superiores al 4 % (Tabla 2). En el caso de *Myotis diminutus*, los porcentajes fueron mayores a 3 % en la mayoría de las comparaciones. De acuerdo con las distancias genéticas, *Myotis handleyii* y *Myotis sp.* Perú, resultaron cercanas a *M. diminutus* ya que presentan distancias genética menores o similares al 3 % (2.66 - 3.16 %). Con base en estos resultados se podría interpretar de que se trata de la misma especie, pero los datos ecológicos y geográficos juegan un papel fundamental para separar a estas dos especies. Principalmente, *M. diminutus* tiene una localidad tipo en la provincia de Los Ríos en Ecuador en la zona de Bosque tropical del Chocó, mientras que *M. handleyi*, se encuentra en la Cordillera de la Costa y el Macizo Oriental de Venezuela (Moratelli et al., 2013). Además, la otra especie *Myotis sp.* peruana está ubicada en el valle de Huanuco en el Bosque tropical andino de bajo nivel en Perú (Brush, 1982). Este lugar presenta vegetación característica de un bosque montano, siendo un lugar de gran actividad antropogénica por lo que está altamente amenazado (Aquino, Zárate, López, García, y Charpentier, 2015). Estos ambientes presentan características únicas y se encuentran separados por varios kilómetros de una barrera natural como lo es la Cordillera de los Andes, que ha permitido eventos de especiación que se discuten más adelante.

Tabla 2. Distancias genéticas. Distancias para la comparación de seis de 32 especies analizadas, corregidas en base al modelo Kimura-2 parámetros del gen Citocromo b. Los números a la izquierda de la diagonal corresponden al promedio de distancia genética entre las especies. Mientras que, los números a la derecha de la diagonal (azul) corresponden a la desviación estándar de estas distancias.

	M. diminutus	***M. albescens***	***M. handleyi***	***M. sp.* Perú**	***M. riparius***	***M. nigricans***
M. diminutus		1.08 %	0.52 %	0.69 %	1.15 %	1.08 %
M. albescens	11.48 %		0.93 %	1.09 %	0.93 %	0.83 %
M. handleyi	2.35 %	10.48 %		0.70 %	1.06 %	1.00 %
***M. sp* Perú**	3.16 %	10.69 %	3.35 %		1.22 %	1.14 %
M. riparius	13.33 %	12.73 %	12.98 %	13.45 %		0.96 %
M. nigricans	11.01 %	9.66 %	11.08 %	11.25 %	13.70 %	

El resto de las especies presentaron porcentajes mayores a 9 %, lo que estaría relacionado a la variación intragenéricas que, según Bradley y Baker (2001), está en un rango entre el 9 % y 22 %. Muchas de las altas distancias genéticas entre *M. diminutus* son congruentes con los árboles filogenéticos que se obtuvieron. Las distancias resultaron mayores mientras más alejados se encontraba *M. diminutus* del resto de clados. Esto se puede comprobar con el porcentaje obtenido entre *M. diminutus* y los grupos externos, que revelaron un porcentaje que varió entre 13 y 14 %. Finalmente, se observó que entre *Myotis diminutus* y *Myotis nigricans* hay una divergencia genética del 11 %, por lo que no estarían cercanamente relacionadas.

Los análisis moleculares soportan que *M. diminutus* es una especie distinta. Los resultaron fueron similares a estudios anteriores en cuanto a las relaciones filogenéticas de especies centroamericanas y norteamericanas (Ruedi y Mayer, 2001; Stadelmann et al., 2007; Larsen, et al., 2012a; Larsen et al., 2012b). Los árboles obtenidos bajo los criterios de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB) mostraron diferencias en sus topologías en cuanto al soporte de los clados más recientes. Este resultado es concordante con Platt y colaboradores (2018), cuyos árboles obtenidos del gen mitocondrial (Citocromo b), resultaron con un 89,62 % de similitud. Esto puede deberse a conflictos de la estimación filogenética y a las diferencias entre cada uno de los criterios bajo los cuales analizamos nuestros datos mitocondriales (Huang, He, Kubatko y Knowles, 2010; Platt et al., 2018).

Debido a que los nodos basales no corresponden a una reciente radiación, los bajos valores de soporte que se presentan en las ramas más antiguas que corresponden a *M. diminutus* pueden darse por que los análisis con base en el Citocromo b, no fueron suficientes para inferir las relaciones taxonómicas a un nivel más profundo (Moravec et al., 2018), por lo que sería mejor implementar datos de marcadores nucleares en próximas investigaciones.

Nuestros resultados muestran a *Myotis diminutus* como una especie monofilética, aunque no se tiene muy claro cómo están las relaciones intraespecíficas en el árbol de Inferencia Bayesiana, por lo que se muestra una politomía de todo el grupo, que incluye a otras dos especies (*Myotis sp*. Perú y *Myotis handleyi*) que mostraron relaciones filogenéticas cercanas a *M. diminutus*. La validez de esta especie está soportada por el árbol bajo el criterio de Máxima

Verosimilitud, en donde se puede visualizar que *Myotis diminutus* está separada del resto de especies que se encuentran en el clado A. Además, se puede soportar con las distancias genéticas que son superiores al 3 % (Tabla 8). De manera similar, Velazco y Patterson (2014) encontraron nuevas especies del linaje más diverso de Phyllostomidae, como es *Sturnira*. Esta investigación analizó a más de 100 muestras genéticas de aproximadamente 10 especies distintas. En base a análisis moleculares evidenciaron la validez de una de tres nuevas especies con un porcentaje de distancia genéticas menor al 3 % (2.27 %). En base a este criterio, en nuestro estudio también se determinó el estado de especie a *M. diminutus* con un porcentaje de 3 %.

La especie *Myotis handleyi* puede ser considerada como hermana de *Myotis diminutus*, por la cercanía filogenética que se muestra en las dos topologías de los árboles bajo los criterios de IB y MV. Esto es respaldado por las distancias genéticas que son inferiores al 3 %. Aunque, en el resto de clado, las relaciones filogenéticas no están claras, totalmente.

Una de las razones por las que la relación entre el Clado A, no está bien determinada, puede ser por procesos de diferenciaciones interespecíficas (hibridación), que, aunque no son usuales, se han reportado casos para especies de murciélagos que se encuentran dentro del género de *Myotis*, como es el caso de *Myotis myotis* y *Myotis blythii*. Esto no nos permite descartar por completo que dentro de las poblaciones de *Myotis* de la Costa, en especial las especies de este género que estén en simpatría con *Myotis diminutus*, exista hibridación entre las especies, ya que no existen estudios en el Ecuador que permitan asegurar o rechazar por completo esta hipótesis (Hoffmann y Baker, 2003). Al existir hibridación entre las especies, las relaciones entre el clado no estarían claras, como es en el caso de los individuos de *M. diminutus* (Figura 1) bajo la información mitocondrial del criterio de inferencia bayesiana (Clare, 2011).

Los árboles filogenéticos muestran que *Myotis diminutus* está cercano a especies de Centroamérica. Los estudios neotropicales de Chiroptera han observado que los murciélagos del oeste de los Andes son, con frecuencia, más similares a la fauna centroamericana que a otras poblaciones sudamericanas al este de los Andes (Clare et al., 2007). Esta relación se basa en la historia geográfica sudamericana, en especial de la Cordillera de los Andes. Desde que comenzó el levantamiento de los Andes hace aproximadamente 80 Ma, la fauna de oriente y occidente se

empezó a separar hasta que quedaron aisladas entre sí (Gregory-Wodzicki, 2000). Este accidente geográfico actuó como una barrera para la divergencia alopátrica entre las especies de la región de Centroamérica y Sudamérica, generando un evento de migración (Hoffman y Baker, 2003). La elevación de los Andes y los cambios en el aumento de temperatura y precipitación, durante el Mioceno (Lack, 2010), seguidos de las variaciones en la disminución de la temperatura y presión atmosférica en el Cuaternario, han facilitado que Ecuador, Colombia y Perú reciban un mayor número de migrantes de la región centroamericana que cualquier otra región en América del Sur, además de contener a especies que pueden dispersarse de igual manera hacia la parte norte del hemisferio y presentar escenarios únicos que facilitan las preferencias de hábitat de las especies (Clare et al., 2011).

Esta afirmación es consistente con nuestros resultados: varias especies que se incluyeron en los análisis moleculares corresponden a especies de la Costa ecuatoriana, conjuntamente con especies centroamericanas, lo que mostró una gran cercanía. Además, se ve que *M. diminutus* difiere ampliamente de especies que están principalmente presentes en el oriente, como individuos que corresponden al clado de *M. riparius*; incluso difiere de especies que se encuentran en la región andina, como *M. albescens.*

5.2. Revisión e identificación de especímenes

Con base en los caracteres morfológicos analizados, propuestos por Moratelli y Wilson en 2011 (Tabla 1), se identificó a cinco especies del género *Myotis*. Los 80 ejemplares revisados de las colecciones ecuatorianas proceden de las provincias de Los Ríos, Cotopaxi, Esmeraldas, Guayas, Imbabura, Manabí, Pichincha y Santo Domingo de los Tsáchilas.

A estos datos se sumaron 15 individuos de la base de datos de Ricardo Moratelli que incluyen a más de 1000 especímenes de distintos géneros de la familia Vespertilionidae. Estos individuos presentan las medidas craneales y corporales completas, por lo que se incluyeron en

la base de datos general. Además, se tomó en cuenta similitudes con la ecorregión en la localidad tipo de *Myotis diminutus* (Figura 3).

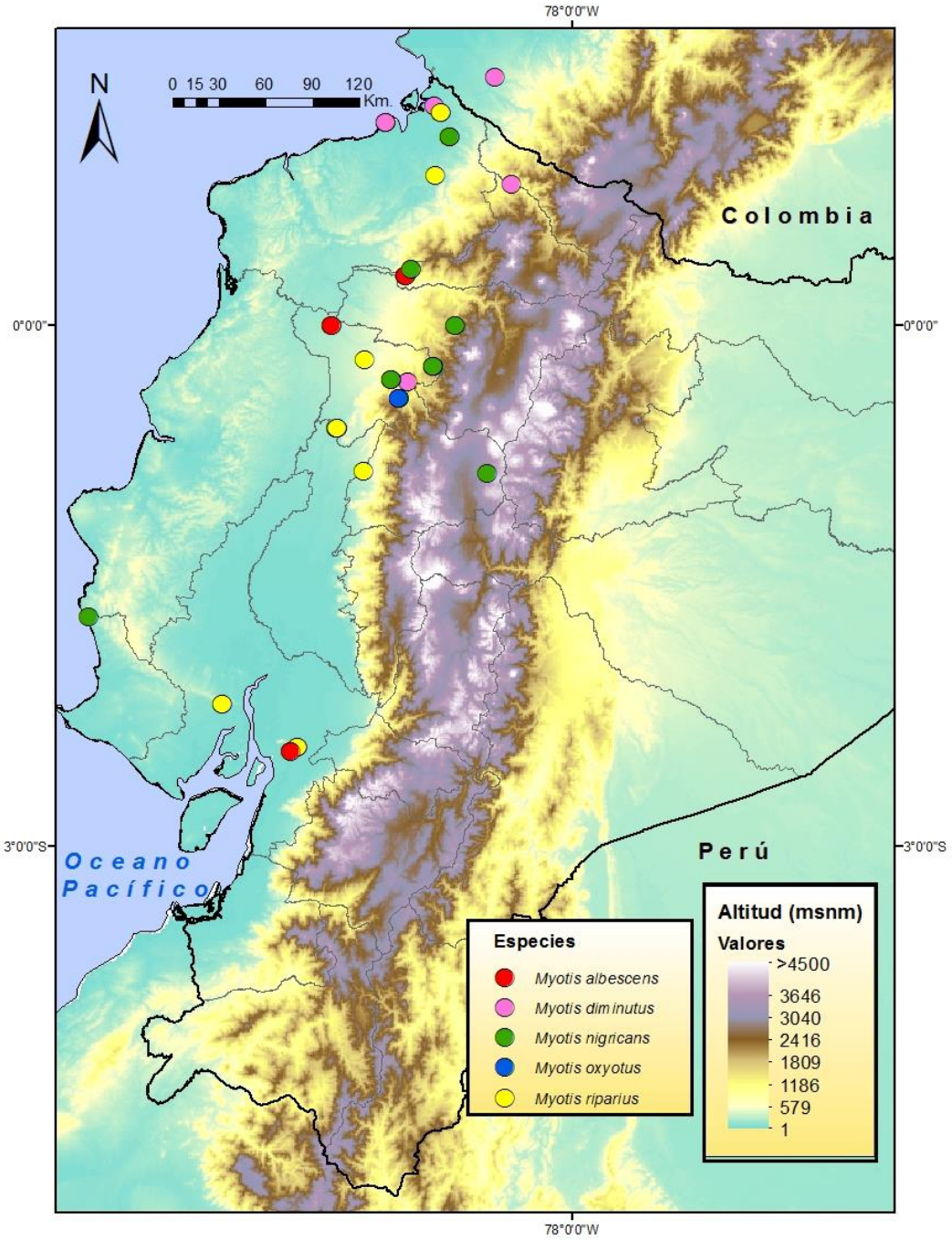


Figura 3. Mapa de las localidades en Ecuador con las especies analizadas. Se muestra el mapa del Ecuador con las localidades de ocurrencia de los especímenes de las cinco especies que se analizaron en este estudio. Los puntos corresponden a: *Myotis diminutus* (rosados), *Myotis albescens* (rojos), *Myotis oxyotus* (azules), *Myotis riparius* (verdes) y *Myotis nigricans* (amarillos).

5.3.Análisis de variables cuantitativas

5.3.1. Descripción de las variables morfométricas

Al observar las medidas de tendencia central (media, máximo, mínimo y la desviación estándar) de las 20 variables, se evidenció que existe una variación de tamaño entre las cinco especies de *Myotis* que se analizó. La especie más pequeña es *M. diminutus* (Tabla 3). Las siguientes especies que le siguen en tamaño en orden de la más pequeña a la más grande son: *M. nigricans*, *M. riparius*, *M. albescens* y *M. oxyotus*.

Al comparar resultados morfométricos de *M. diminutus* con el resto de las especies, se observó que presentaba las medidas más pequeñas, en general. La variable (FA) longitud del antebrazo fue la medida que más varió. Esta variable es usada con frecuencia para diferenciar a distintas especies del género *Myotis* (Haarsma, 2008; Moratelli et al., 2013). La especie que mostró más similitud en esta medida es *M. nigricans*, que posee rangos que pueden sobrelaparse con *M. diminutus* (*M. nigricans*: 35.18 – 36.58; *M. diminutus*: 31.60 – 35.93). Las diferencias se destacan en las medidas de los índices tanto craneal como maxilar; en estas variables se observó que *M. nigricans* es ligeramente más grande que *M. diminutus.*

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de las variables. Medidas de tendencia central para cada uno de los individuos por especie (N= número de individuos que se midió para esa variable; (Rango)= Mínimo – Máximo; $\bar{X}$ (promedio) ± σ (desviación estándar). Las abreviaturas de cada variable se encuentran en la Tabla 1.

Variable	*Myotis diminutus*		*Myotis riparius*		*Myotis oxyotus*		*Myotis albescens*		*Myotis nigricans*	
	(Rango) $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**
GLS	12.33–13.82 13.17 ± 0.31	44	13.44–14.05 13.72 ± 0.17	19	14.25–14.78 14.50 ± 0.22	7	13.71–14.23 13.98 ± 0.20	5	13.04–14.54 13.56 ± 0.47	20
CCL	10.60–12.43 11.86 ± 0.35	44	12.05–12.69 12.42 ± 0.18	19	12.83–13.29 13.10 ± 0.15	7	12.23–12.58 12.45 ± 0.14	5	11.67–13.93 12.12 ± 0.42	20
CBL	11.50–12.95 12.32 ± 0.32	44	12.42–13.36 12.97 ± 0.25	19	13.37–13.96 13.62 ± 0.22	7	12.54–12.94 12.79 ± 0.17	5	12.08–13.40 12.63 ± 0.43	20
CIL	11.39–13.35 12.79 ± 0.32	44	13.03–13.70 13.34 ± 0.20	19	13.80–14.37 14.13 ± 0.18	7	13.23–13.57 13.44 ± 0.14	5	12.29 – 14.05 13.02 ± 0.50	20
BAL	10.20–11.45 11.23 ± 0.21	40	11.71–12.34 11.98 ± 0.19	19	12.29–13.07 12.75± 0.26	7	11.73–12.14 11.94 ± 0.17	5	10.86 –12.51 11.63 ± 0.46	20
ZB	7.70–8.37 8.13± 0.17	37	8.67–9.26 9.03 ± 0.18	10	8.60–9.25 8.82 ± 0.22	6	8.74–9.21 8.97 ± 0.20	5	7.88–9.14 8.49 ± 0.43	13
MAB	6.00–7.23 6.82 ± 0.21	41	7.01–7.38 7.17 ± 0.13	19	7.02–7.87 7.30 ± 0.29	7	7.10–7.54 7.31 ± 0.17	5	6.72–7.40 6.99 ± 0.20	19
BCB	5.72–6.71 6.40 ± 0.17	44	6.24–6.66 6.45 ± 0.11	19	6.63–6.88 6.79 ± 0.09	7	6.89–7.34 7.17 ± 0.19	5	6.16–6.82 6.48 ± 0.16	20
IOB	3.88–4.08 3.99 ± 0.06	44	4.40–5.15 4.66 ± 0.21	19	4.47–4.90 4.58 ± 0.15	7	4.63–4.88 4.77 ± 0.11	5	4.08–4.96 4.50 ± 0.23	20
POB	3.17–3.54 3.36 ± 0.09	44	3.38–3.71 3.55 ± 0.09	19	3.50–3.83 3.67 ± 0.10	7	3.92–4.19 4.03 ± 0.10	5	3.17–3.77 3.43 ± 0.16	20

Tabla 3. (Continuación) Estadísticos descriptivos de las variables.

Variable	*Myotis diminutus*		*Myotis riparius*		*Myotis oxyotus*		*Myotis albescens*		*Myotis nigricans*	
	(Rango) $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	**N**	**(Rango)** $\bar{X} \pm \sigma$	
BAC	3.02–3.57 3.39 ± 0.12	44	3.63–4.09 3.87 ± 0.12	19	3.59–4.23 3.76 ± 0.21	7	3.49–3.85 3.72 ± 0.16	5	3.17–3.84 3.49 ± 0.19	20
BAM	4.80–5.66 5.39 ± 0.15	44	5.53–6.09 5.75 ± 0.14	19	5.64–6.01 5.80 ± 0.12	7	5.25–5.68 5.54 ± 0.19	5	4.86–6.32 5.50 ± 0.39	19
MTL	4.41–5.26 5.01 ± 0.14	44	5.16–5.54 5.31 ± 0.12	19	5.60–5.89 5.73 ± 0.10	7	5.13–5.33 5.24 ± 0.07	5	4.75–5.73 5.12 ± 0.26	20
M13	2.56–2.97 2.85 ± 0.08	44	2.93–3.16 3.04 ± 0.07	19	3.14–3.31 3.22 ± 0.06	7	2.81–2.96 2.88 ± 0.05	5	2.64–3.29 2.92 ± 0.18	20
MAL	8.20–8.77 8.63± 0.19	44	8.94–10.42 9.78 ± 0.42	18	9.33–10.01 9.52 ± 0.24	7	8.98–9.22 9.08 ± 0.10	5	8.39–10.52 9.21 ± 0.52	19
MAN	4.70–5.43 5.19 ± 0.15	43	5.29–5.80 5.58 ± 0.13	19	5.75–6.21 5.91 ± 0.17	7	5.29–5.44 5.36 ± 0.06	5	5.04–5.81 5.40 ± 0.22	20
FA	31.60–35.93 33.86 ± 1.01	43	31.99–39.90 36.68 ± 2.00	17	36.73–41.77 39.21 ± 1.53	7	35.18–36.58 36.33 ± 0.60	5	31.62–37.72 35.35 ± 1.86	13
3ML	28.71–33.75 31.85 ± 1.03	41	32.01–37.40 34.20 ± 1.27	16	33.41–38.38 36.11 ± 1.50	7	32.24–33.54 33.07 ± 0.57	5	29.84–35.85 33.03 ± 1.71	13
CRI	59.18–73.59 68.38± 2.70	44	72.36–80.67 76.27± 2.15	19	80.01–83.94 82.41 ± 1.74	7	80.50–85.59 83.50 ± 2.00	5	69.44–84.11 74.45 ± 4.69	20
MXI	17.24–24.05 22.01 ± 1.15	44	24.12–28.20 25.54 ± 1.11	19	26.60–30.16 27.42 ± 1.24	7	22.99–25.29 24.25 ± 0.92	5	19.07–29,11 23.22 ± 2.67	19

5.3.2. Análisis estadísticos de las variables

Las regresiones lineales muestran que existe una correlación entre la longitud máxima del cráneo (GLS) y las demás variables (Figura 4). Se observa que *M. diminutus* presenta medidas más pequeñas en comparación al resto de especies y que las medidas se acercan a la recta, aunque se observa que para la amplitud interorbital (IOB), los puntos se encuentran alejados negativamente de la recta (Figura 4D)En el caso de *M. nigricans*, los puntos se encuentran dispersos a lo largo de la recta por lo que no se puede observar una tendencia de correlación clara para esta especie, las observaciones se encuentran alejadas tanto positiva como negativamente a lo largo de la recta en todas las variables. *M. riparius*, generalmente, se observa como una especie más grande que *M. diminutus* ya que presenta variables mayores ocupando una posición central en la recta en la mayoría de las variables, a excepción del ancho de la caja craneal (BCB), donde se observa que alguno de los puntos que corresponde a *M. diminutus* superan positivamente a *M. riparius* (Figura 4C).

En el caso de M. *albescens,* se observa que para la longitud cóndilo-canino (CCL), longitud cóndilo basal (CBL), longitud cóndilo- incisivo (CIL) y la longitud de la hilera maxilar (MTL) se encuentran más cercanas a la recta de manera negativa (Figura 4A, 4B y 4I). Se observa que *M. albescens* tiene un tamaño similar con *M. riparius* ya que los puntos se sobreponen, incluso se encuentran debajo de *M. riparius.* Se puede decir que esta especie tiene un mayor tamaño en comparación a *M. riparius* y *M. diminutus*, solo para las variables amplitud postorbital (POB) y ancho de la caja craneal (BCB) (Figura 4G y 4C).En último lugar, se encuentra *M. oxyotus* que a simple vista parece que tiene un tamaño mayor que al resto de especies, pero esa característica solo se encontró en tres variables: longitud cóndilo-canino (CCL), longitud cóndilo-canino (CBL), longitud cóndilo-incisivo (CIL) y longitud de los dientes de la maxila. (MTL) (Figura 4A, 4B, 4I y 4F). Para el resto presenta un tamaño que se puede sobreponer con *M. riparius*, *M. albescens* algunas observaciones de *M. nigricans*.

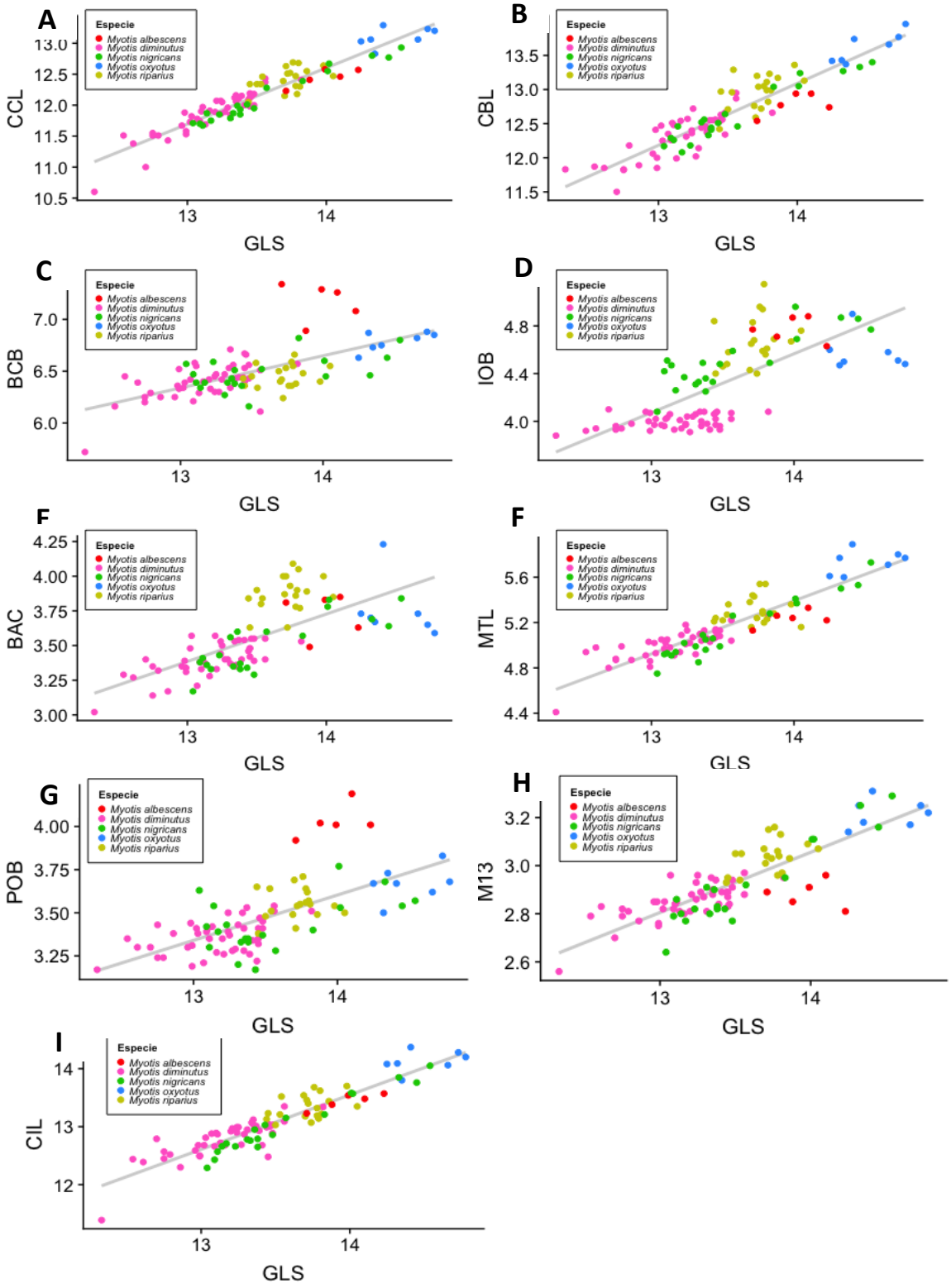


Figura 4. Regresión lineal de las variables. Se observa la regresión lineal de las nueve variables con las que se procedió a realizar los análisis multivariados para las cinco especies que se analizó usando a la longitud del cráneo (GLS) para comparar el resto de las variables. (**A**) longitud cóndilo-canino (CCL), (**B**) longitud cóndilo-basal (CBL), (**C**) ancho de la caja craneal (BCB), (**D**) longitud de la región interorbital (IOB), (**E**) amplitud a través de los caninos (BAC), (**F**) longitud de los dientes de la maxila (MTL), (**G**) amplitud postorbital (POB), (**H**) longitud de los molariformes (M13) y (**I**) longitud cóndilo-incisivo (CIL).

Los datos morfológicos evidencian una variación de tamaño entre *M. diminutus* y otras especies de este género que se encuentran en la Costa ecuatoriana. En los análisis se mostró que *M. diminutus* es una de las especies más pequeñas del género *Myotis*, lo que es muy evidente si comparamos con las medidas de *M. oxyotus*, una de las especies más grandes de la zona (Moratelli, 2011).

La similitud de *M. diminutus* con otras especies del mismo género podría dificultar la identificación taxonómica. Las medidas como la longitud del antebrazo (FA) y la longitud del metacarpiano III (3ML), son medidas que ayudan a diferenciar a las especies dentro del género y que, en este caso, sí se observó una variación (Moratelli y Wilson, 2011). Aunque, las medidas que permitirían identificar a *M. diminutus* con otras especies son las medidas del índice craneal (CRI) y del índice maxilar (MXI), especialmente diferenciarla de *M. nigricans*, a la cual se lo cataloga como una especie altamente relacionada con *M. diminutus* debido a las características morfológicas (Moratelli y Wilson, 2015).

En el caso de la medida 3ML, *M. albescens* presentó una medida similar, pero es fácil distinguirla de *M. diminutus*, ya que tiene una gran cantidad de pelos en el borde inferior del uropatagio, además de la presencia de una coloración blanca del pelaje dorsal a manera de una escarcha contrastante (LaVal, 1973; Moratelli et al., 2011, 2013). Esta especie resultó distanciada en el ACP; esto puede deberse a que *M. albescens* tiende a aumentar de tamaño con la latitud (López-González, Presley, Owen y Willig, 2001).

Otra especie que es problemática con *M. diminutus* es *M. riparius*, pero, de igual manera, una característica que permite diferenciar a estas dos especies es la evidente presencia de la cresta sagital, la cual se encuentra altamente desarrollada en *M. riparius* (LaVal, 1973) y levemente presente en *M. diminutus*.

Las medidas de tendencia central facilitaron el reconocimiento de puntos atípicos que se evidenciaron en tres de cinco especies: *M. diminutus*, *M. albescens* y *M. oxyotus* (Tabla 4). Se revisó cada uno de estos datos atípicos para evitar pasar por alto errores de tipeo o medición, como recomienda Peña (2002). De las tres especies con datos atípicos, el

individuo que corresponde al segundo registro de *M. diminutus* (USNM 528569) resultó ser recurrente en seis de las diez variables que se analizó. Además, se observó que *M. albescens* y *M. oxyotus* presentaban individuos que eran atípicos para la amplitud postorbital (POB).

Tabla 4. Especies con datos atípicos. Se muestra a las tres especies, *M. diminutus*, *M. oxyotus* y *M. albescens*, que presentaron datos atípicos en las medidas de tendencias central. Dentro de cada especie se observa al individuo (número de museo) que se presentó como atípico, seguido de la variable que en la que se mostró esta variación. El símbolo (-) sobre la variable significa que el valor fue menor que lo esperado y el símbolo (+) sobre la variable significa que el valor fue mayor que lo esperado. El nombre de cada variable se encuentra en la Tabla 1.

Especie	Número de museo	Variable
Myotis diminutus	LACM 18761	CCL-
	USNM 528569	GLS-, CCL-, CIL-, BCB-, BAC-, MTL-, M13-
Myotis oxyotus	QCAZ 17252	CIL-, POB-
	QCAZ 3617	IOB+, BAC+
	QCAZ 17285	POB+
	QCAZ 17251	CIL-, POB-
Myotis albescens	QCAZ 10583	POB+, MTL+
	QCAZ 10582	POB-, MTL-

Los resultados de este estudio permitieron observar las variaciones morfológicas y morfométricas de *Myotis diminutus*. El individuo que corresponde al holotipo de *Myotis diminutus* y el segundo registro de la especie aparecen como puntos atípicos en los análisis morfométricos. Esto se debe a que al ser un individuo subadulto, en el caso del holotipo, no ha alcanzado su tamaño de adulto, por lo que las medidas que se toman no se ajustan al resto de datos y generan variación dentro de la matriz de muestra (Haarsma, 2008).

El segundo registro de *Myotis diminutus* corresponde a una hembra de la región sur de Colombia. Las medidas de este espécimen concordaron con la mayoría de las

mediciones del resto de especímenes que se analizaron, siendo la variable (CCL) longitud cóndilo-canino, la excepción. La variación en esta medida pudo haberse generado por el proceso de medición. Las medidas del holotipo y del segundo registro fueron tomadas por otro investigador, por lo que pudo diferir en el valor exacto para esta variable. Aunque se trata de ser preciso en la toma de medidas, existe un pequeño error cuando la medición cambia entre diferentes investigadores (Senar, 1999).

Hay que tomar en cuenta que en esta investigación no se logró hacer una diferenciación de tamaño entre machos y hembras, porque se encontraba una proporción más alta de hembras que machos en el conjunto de datos. Esta proporción tan desigual se debe a que generalmente los machos de *Myotis* son territoriales con otros machos, así que en una colonia el número de hembras supera al número de machos y es más frecuente la captura de hembras (Wilson y LaVal, 1974; Moratelli et al., 2011). Al no realizar una diferenciación entre machos y hembras, esto pudo generar los puntos atípicos dentro de cada especie ya que en estudios previos registran que la mayoría de las especies de *Myotis* presentan una variación alta entre sexos (Bornholdt, Oliveira y Fabián, 2008).

5.3.3. Análisis de Componentes Principales

Posteriormente al análisis de tendencias centrales, se procedió a realizar las correlaciones entre las variables para hacer los análisis estadísticos. Esto permitió eliminar a 10 variables que presentaban datos faltantes y se relacionaban entre sí. Esta correlación evitó perder información al no eliminar individuos para las pruebas multivariadas.

Al tener la matriz con las variables restantes, obtenidas luego de los análisis de correlación, se procedió con los análisis de adecuación. La medida de adecuación de muestra (MSA), a través de la prueba de Kaiser- Meyer- Olkin (KMO), aportó un valor de 0.90 para las 10 variables en conjunto y para cada variable por separado (Tabla 5). Todas las variables presentaron un valor superior a 0.80, por lo que no se eliminó ninguna variable por esta prueba. El valor obtenido por el MSA (0.90) se encuentra dentro de los rangos aceptables

para poder continuar con las demás pruebas factoriales y proceder con el Análisis de Componentes Principales (ACP).

Tabla 5. Análisis de la matriz de correlaciones. Supuestos de Multicolinealidad para 10 variables morfométricas (n=95), a través de la prueba KMO (Kaiser-Meyer-Olkin).

VARIABLES	VALOR KMO
GLS	0.90
CCL	0.87
CBL	0.95
CIL	0.95
BCB	0.86
IOB	0.85
POB	0.91
BAC	0.86
MTL	0.90
M13	0.88
VALOR MSA GENERAL	0.90

El número de grupos obtenido por el paquete *NbClust* permitió confirmar la clasificación taxonómica tradicional, de cinco grupos correspondientes a las cinco especies, con lo que se puede confirmar como grupos independientes. Este número de grupos fue seteado para el Análisis de Componentes Principales (ACP). El ACP que se obtuvo con estos cinco grupos no los reconoció como agrupaciones que se apliquen a las formas dentro de las poblaciones de *Myotis* en la Costa de Ecuador. Al contrario, se observaron claramente dos grupos. El primer grupo está formado *M. albescens,* y el segundo grupo está conformado por las demás especies (*M. diminutus*, *M. riparius*, *M. nigricans* y *M. oxyotus*) (Figura 5).

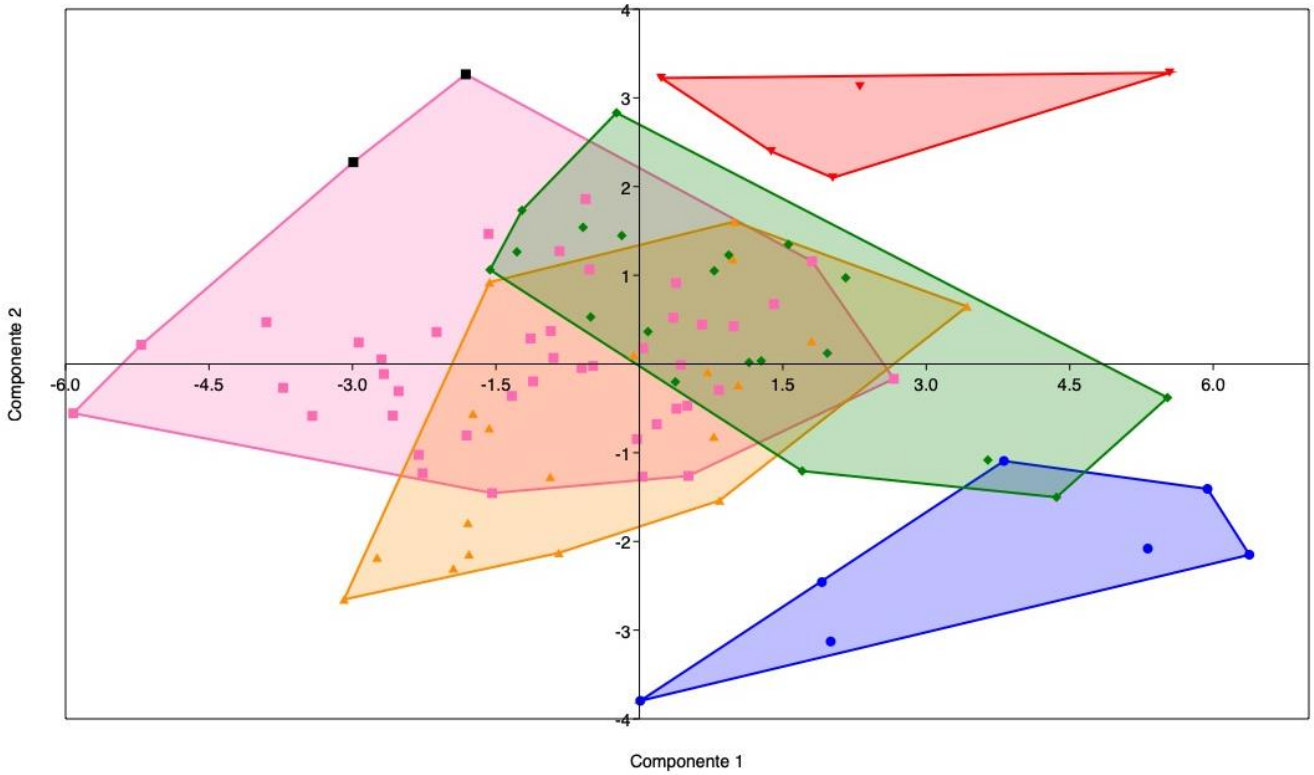


Figura 5. Análisis de Componentes Principales de dos agrupaciones morfométricas. Proyección de especímenes del grupo 1: *Myotis albescens* (rojo). El grupo 2: *Myotis diminutus* (rosado), *Myotis riparius* (amarillo), *Myotis nigricans* (verde) y *Myotis oxyotus* (azul). Los puntos negros dentro de *Myotis diminutus*, corresponden al holotipo y al segundo registro de la especie.

En el ACP se consideraron los dos primeros componentes principales debido a que presentaron el mayor porcentaje de variación para el conjunto de especímenes analizados, explicando un 74.791 % de la varianza total. El CP1 explica el 54.28 % total de la varianza de la muestra (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de Componentes Principales de cinco agrupaciones morfométricas. Resultados del Análisis de Componentes Principales sobre 10 variables morfométricas cráneo-dentales y corporales de 95 ejemplares de *M. diminutus*, *M. riparius*, *M. oxyotus*, *M. albescens*, *M. nigricans*.

Variables	Componente	
	1	**2**
GLS	0.35346	-0.27541
CCL	0.28882	0.54567
CBL	0.2692	0.3928
CIL	0.30616	0.42151
BCB	0.27695	-0.57151
IOB	0.3094	-0.45427
POB	0.29976	-0.58885
BAC	0.37287	-0.15999
MTL	0.33367	0.46961
M13	0.33584	0.37312
Valor propio	5.42885	2.05032
% varianza	54.288	20.503

Las variables que aportaron mayor variación para este componente están determinadas y explicadas por la amplitud a través de los caninos. (BAC), la longitud del cráneo (GLS), la longitud de los molariformes (M13), la longitud de los dientes de la maxila (MTL), la longitud de la región interorbital (IOB) y la longitud cóndilo-incisivo (CIL). El CP1 explica las variaciones en el tamaño de los especímenes (Cadima y Jolliffe, 1996). Las variables con mayor aporte, al ser variables que miden la longitud, se confirma que estas variables son más grandes que el resto de las variables.

En el CP1, las variables con mayor aporte demuestran que las especies correspondientes a *M. oxyotus*, *M. riparius*, *M. diminutus* y algunos individuos de la especie *M. nigricans* presentan valores mayores para estas variables; aunque, se observó que dentro de grupos como *M. oxyotus*, *M. nigricans* y *M. albescens* existen individuos con valores para estas variables significativamente mayores. Además, se observó que el grupo conformado por *M. albescens* está separado del grupo que contiene a las cuatro especies en el CP 2, que explica la forma del cráneo. Individualmente, para el CP1 se observa un importante sobrelapamiento entre los grupos y que muchos de los individuos dentro del grupo que conforma a *M. nigricans* se encuentran dentro de los otros grupos de especies. Esto puede ser un indicio de que los especímenes bajo el nombre de *M. nigricans* no corresponden a esta especie.

El CP2 explica el 20.503 % del total de la varianza (Tabla 6) y está determinando las variaciones en la forma. Las variables que surgieron significativamente distintas en la forma para este componente son los valores de la longitud del cóndilo canino (CCL), la longitud de los dientes de la maxila (MTL), la longitud cóndilo-incisivo (CIL), la longitud cóndilo-basa (CBL) y la longitud de la región interorbital (IOB) las variables que resumen esta variación. El CP2 explica las variaciones de formas. La longitud de los dientes de la maxila (MTL) y la longitud del cóndilo canino (CCL), son las variables que más se destaca en este componente, siendo la de mayor aporte positivo. Estos valores de mayor aporte son mayores para los individuos correspondientes al grupo que contiene a *M. albescens* en comparación con el otro grupo que contiene al resto de las especies. Por otro lado, la variable que corresponde a la longitud de la región interorbital (IOB) es menor para *M. oxyotus*, por lo que se puede separar en este componente.

Es importante mencionar que el CP1 tiene mayor porcentaje de varianza que el CP2, por lo que se puede definir que los grupos están mayoritariamente diferenciados por el tamaño que por la forma. Esto es concordante con los datos de las variables morfométricas que se muestran en la Tabla 3 y Figura 4, donde notoriamente observamos un orden de tamaño, siendo *M. diminutus* el más pequeño.

5.3.4. Agrupamiento de especies

La matriz de confusión entregada por el algoritmo K-means (Tabla 7) fue configurada con la clasificación en base al número de especies; es decir, se determinó que el estadístico agrupe a nuestros datos en cinco grupos.

Tabla 7. Matriz de confusión de agrupamientos de cinco especies del género Myotis mediante el algoritmo K-means. Clasificación de 95 individuos de cinco especies (*M. diminutus, M. riparius, M. oxyotus, M. albescens* y *M. nigricans*).

Agrupación Asignada	Agrupación Predicha				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
M. diminutus	30	3	0	0	11
M. riparius	8	11	0	0	0
M. oxyotus	0	0	7	0	0
M. albescens	0	0	0	5	0
M. nigricans	9	2	3	2	4

La agrupación para *M. albescens* y *M. oxyotus* concordó con la clasificación predicha en su totalidad, con cinco y siete especímenes, respectivamente. El resto de las especies no se ubicaron en un solo grupo, y algunos individuos se encuentran en otros grupos correspondientes a distintas especies, aunque ciertos individuos se encuentran acumulados con mayor porcentaje en los grupos predichos.

La clasificación para *M. diminutus* fue correcta en 30 individuos, pero aproximadamente un tercio del resto de especímenes se ubicaron en otros grupos (11 en *M. nigricans* y 2 en *M. riparius*). De igual manera sucede con individuos de *M. riparius* y *M. nigricans*, solo que, en este último caso, los especímenes no muestran un grupo al que mayoritariamente pertenezcan, ya que se encuentran distribuidos de manera equivalente dentro de cada grupo.

La especie *M. diminutus* es muy similar a las cuatro especies con las que se comparó, presentando variaciones morfométricas no tan distantes. En el caso de *M. diminutus, M. riparius* y *M. nigricans,* las variaciones son muy pequeñas (Tabla 3), por lo que, como se observa en el ACP y en la tabla de confusión de K-means, se encuentran sobrelapadas, corroborando lo encontrado por Moratelli y Wilson (2011, 2015) y Moratelli y colaboradores (2013). El Análisis Discriminante, basados en la clasificación a *a priori* de los datos, presentó un porcentaje correcto de ubicación de 96.77 % (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación predicha de Análisis de Función Discriminante. Resultados del Análisis Discriminante sobre 10 variables morfométricas cráneo-dentales y corporales de 95 ejemplares de *M. diminutus, M. riparius, M. oxyotus, M. albescens, M. nigricans.* (Porcentaje de clasificación correcta: 96.77 %).

Agrupación Asignada	**Agrupación Predicha**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
M. diminutus	44	0	0	0	0
M. riparius	0	19	0	0	0
M. oxyotus	0	1	6	0	0
M. albescens	0	0	0	5	0
M. nigricans	0	1	1	0	18

Las agrupaciones conformadas por especímenes de las especies *M. diminutus*, *M. riparius* y *M. albescens* tuvieron el 100 % de clasificación acertada. Adicionalmente, dentro del conjunto de *M. oxyotus*, un individuo fue reubicado al grupo que corresponde a *M. diminutus*. En el caso de *M. nigricans*, 18 individuos fueron colocados acertadamente, mientras que dos individuos fueron reubicados en el grupo de *M, riparius* y *M. oxyotus*, respectivamente. Para este análisis se tomaron en cuenta las dos primeras funciones discriminantes (FD), que presentan gran capacidad predictiva y que explican el 79.19 % de la varianza total (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de Función Discriminante de cinco agrupaciones morfométricas. Resultados del Análisis de Función Discriminante sobre 10 variables morfométricas cráneo-dentales y corporales de 95 ejemplares de *M. diminutus*, *M. riparius*, *M. oxyotus*, *M. albescens*, *M. nigricans.*

Variables	Componentes	
	1	**2**
GLS	0.13268	-0.010855
CCL	0.022179	0.020346
CBL	0.027098	0.046569
CIL	0.027076	0.0075132
BCB	0.052014	-0.10566
IOB	0.00024066	0.046032
POB	0.027802	-0.07036
BAC	0.039691	0.063788
MTL	0.037254	0.030184
M13	0.059283	0.066677
Valor propio	5.5209	2.6089
% Varianza	53.61	25.33

La FD1 expresa el 53.61 % de la varianza, y sus cargas discriminantes muestran que las variables con mayor aporte en la discriminación de las cinco agrupaciones son la longitud del cráneo (GLS) y la longitud de la región interorbital (IOB). La FD2 presentó un aporte del 25.33 % de la varianza, siendo las variables de mayor contribución positiva la amplitud postorbital (POB) y el ancho de la caja craneal (BCB). Por otro lado, las variables de contribución negativa para esta función son la longitud del cráneo (GLS), la longitud de los dientes de la maxila (MTL) y la longitud cóndilo-incisivo (CIL).

El análisis separó a las especies en cinco grupos (Figura 6). Al proyectar los especímenes en un gráfico entre la FD1 y la FD2, se observó que los especímenes de los

individuos que corresponden al grupo de *M. diminutus* están, en su mayoría, discriminados por las variables de mayor porcentaje de carga positiva en el eje FD2.

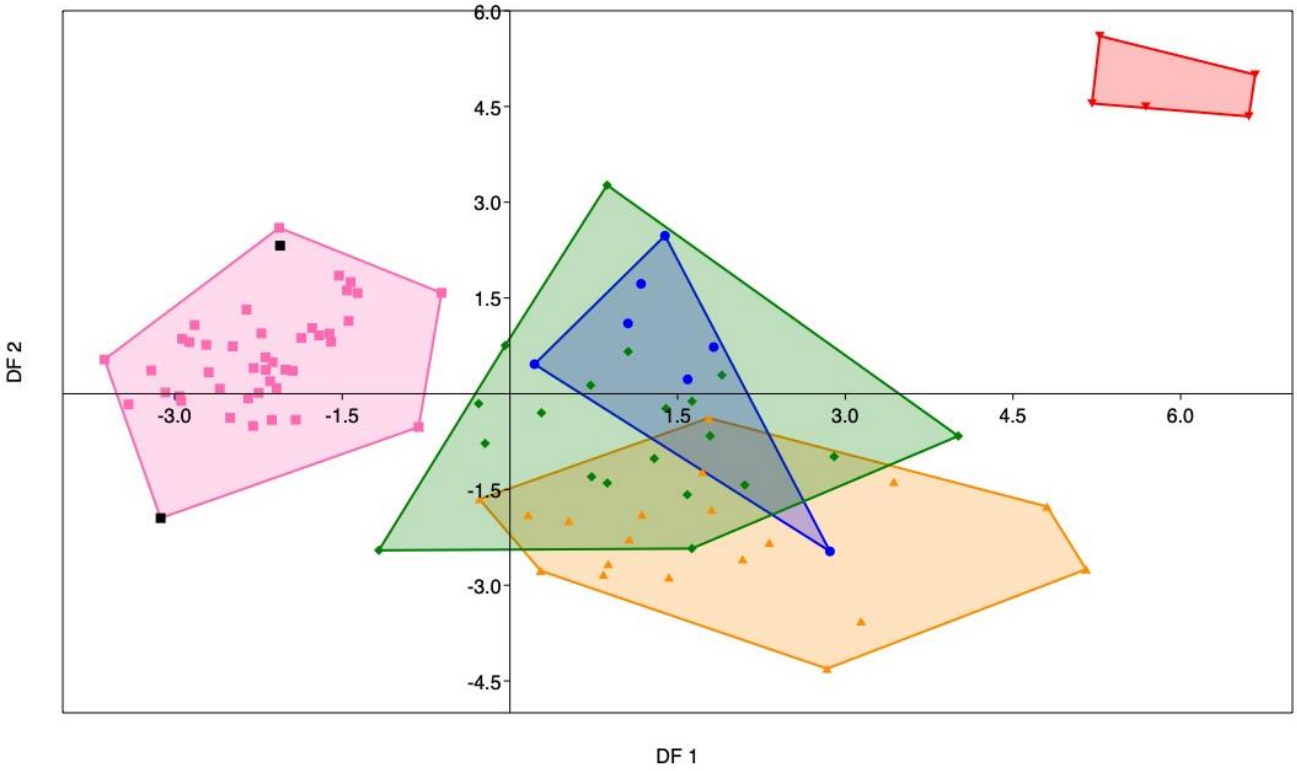


Figura 6. Análisis Discriminante de cinco agrupaciones morfométricas. Proyección de especímenes de *Myotis diminutus* (rosa), dentro de este grupo los dos puntos negros corresponden al holotipo y al segundo registro de la especie, *Myotis riparius* (amarillo), *Myotis nigricans* (verde), *Myotis albescens* (rojo) y *Myotis oxyotus* (azul).

Además, los grupos *M. riparius*, *M. nigricans* y *M. oxyotus* no pueden ser diferenciados entre sí, ya que hay sobrelapamiento entre los grupos, pero pueden ser discriminados por las variables de mayor carga en el eje FD1 y de carga negativa en el eje FD2. El grupo que se encuentra más separado del resto que corresponde a *M. albescens*, el cual se encuentra discriminado por el eje FD1 y los valores positivos del eje FD2. Los tipos de agrupación K-means y análisis discriminante, son algoritmos que tienen como objetivo minimizar la variación dentro del grupo y maximizar la variación entre grupos (Ding y Li 2007). Las diferencias entre el uso de estas dos metodologías se basan en el tipo de algoritmo que cada estadístico utiliza, con lo que conlleva a una complejidad matemática (De la Torre

y Kanade, 2006). En el agrupamiento K-means no se necesita conocimientos previos sobre los grupos que se van a formar, debido a que este algoritmo nos va a dar los grupos *a priori* y la composición de cada grupo a partir de las semejanzas entre todos los elementos del conjunto de datos (Magidson y Vermunt, 2002). De distinta manera, el análisis discriminante es un método clasifica a los elementos de un set de datos a partir de un modelo de predicción en función de las características de cada elemento (Jombart, Devillard y Balloux, 2010). A diferencia de la agrupación K-means, este método necesita conocer previamente la variable de agrupación, es decir el número de grupos en los que nuestros datos se van a agrupar (Ding y Li 2007). Es importante mencionar que el método K-means es un análisis que no puede cambiar el código de programación una vez los elementos, hayan sido agrupados; en cambio, el análisis discriminante usa un algoritmo que diseña un modelo y continuamente está cambiando (Fraley y Raftery, 2002). Este tipo de variaciones entre los dos modelos, específicamente la forma matemática que cada uno utiliza genera variaciones entre los resultados obtenidos bajo estas dos agrupaciones.

Los problemas en la identificación entre especies crípticas han sido recurrentes, especialmente, dentro de *Myotis nigricans* (Bickford et al., 2007; Moratelli et al., 2011a; Moratelli y Wilson, 2015). Esta especie presenta distribuciones en casi toda la región sudamericana y parte de la zona de Centroamérica (Moratelli et al., 2011a). Muchos de los registros que existen para esta especie corresponden a individuos de otras especies, incluso, a especies que no se han descrito aún (Wilson y LaVal, 1974; Larsen et al., 2012b; Filippi-Codaccioni et al., 2018). *Myotis nigricans* ha sido una especie a la cual se la acreditan varios registros, debido a estar aparentemente presente en toda la región y ser la "más común". En el estudio de LaVal en 1973, el autor menciona que la taxonomía entre especies del género *Myotis* es complicada y que, si en el proceso de identificación de una especie no concuerda con alguna de las características diagnósticas, seguramente pertenece a *Myotis nigricans*. Estudios moleculares y algunos morfológicos, sugieren que los registros de esta especie están sobreestimados y que el rango puede estar restringido a la región sur de Brasil (Moratelli et al., 2011a; Larsen et al., 2012a, 2012b; Platt et al., 2018). Incluso, *M. diminutus* fue considerado como *M. nigricans* antes de su descripción, pero los datos dentro de este estudio demuestran lo contrario. Por estas razones, la aseveración en estudios

anteriores, sobre que las relaciones taxonómicas están explicadas de mejor manera por las cercanías geográficas, en lugar de la similitud morfológica, sería correcta para este grupo (Ruedi y Mayer, 2001).

La diversidad de hábitats y oportunidades de nichos ecológicos han permitido que este género se diversifique ampliamente, aunque exista una cercanía geográfica (Arango, 1990; Fenton y Bogdanowicz, 2002). La cercanía geográfica explicaría por qué especies que se encuentran en la misma región son cercanas filogenéticamente, al momento de los análisis moleculares. De igual manera, se puede mostrar que especies que están separadas por amplios rangos geográficos, también se encuentran separadas en los árboles filogenéticos, como es en el caso de *M. diminutus* y *M. nigricans*. Los países de Brasil y Ecuador han sido sitios en los que existe una amplia diversidad de quirópteros, y esta diversidad puede llegar a ser muy distinta dependiendo del tipo de hábitat en el que las especies se encuentren (Clare, 2011). La localidad tipo de *M. nigricans* se encuentra en la región costera de Brasil, en los biomas de la Mata Atlántica y el bosque de Catinga, que se caracterizan por ser regiones únicas y con una gran diversidad de fauna (Rodrigues, et al., 2016). Se ha demostrado que la proximidad geográfica no es sinónimo de especies iguales; por ejemplo, el bosque de Catinga y la Cerda edáfica en Brasil muestran faunas de murciélagos marcadamente distintas (Mares, Willig y Lacher Jr., 1985), así que la diferencia que existe entre los biomas de la región atlántica de Brasil y la Costa del pacífico de Ecuador permitiría mencionar que las especies son muy distintas, y que los individuos bajo el nombre de *M. nigricans* en la zona costera de Sudamérica, no son iguales al holotipo. Este problema explicaría por qué muchos de los individuos de *Myotis nigricans* en el ACP, se encuentran dentro de los otros grupos de especies.

La incorrecta identificación de esta especie se debe a la alta variación morfológica que existe entre las poblaciones de *Myotis nigricans* (López-González et al., 2001; Wilson y LaVal, 1974). Estudios en *M. nigricans* han determinado que existe una alta variación en el tamaño y características de la especie, dependiendo de la región en la que se localicen, e incluso se ha analizado que las poblaciones de *M. nigricans* del lado Pacífico de los Andes pueden ser distintas de las poblaciones asignadas actualmente a *M. nigricans* de la localidad

tipo (Moratelli et al., 2013, 2011a, 2011b). Un ejemplo claro se encuentra en las poblaciones de *M. nigricans* del norte de las elevaciones venezolanas, que presentan un mayor tamaño, así como una coloración del pelaje dorsal (tricolor), distintas a las poblaciones que se encuentran al sur (bicolor), como en Colombia (Moratelli et al., 2013).

Además de la variación de tamaño dentro de la especie, se ha evidenciado que existe una clara diferenciación morfológica entre hembras y machos, lo que podría estar interviniendo en el sobrelapamiento de *M. nigricans* sobre los grupos formados, incluyendo a *M. diminutus* (Wilson y LaVal, 1974). Las hembras de *M. nigricans* tienden a ser más grandes que los machos, debido al cuidado parental de las crías (Myers, 1978).

5.4.Diagnosis enmendada de *Myotis diminutus*

Distribución: *Myotis diminutus* se distribuye en las regiones de Bosque húmedo del centro y norte de la Costa de Ecuador que corresponde a la bioregión del Chocó (Moratelli y Wilson, 2011) y la zona de Bosque deciduo de la Costa (Ministerio de Ambiente del Ecuador, 2013); además, ocupa parte de la región sur del bosque de Chocó de Colombia (Moratelli y Wilson, 2015). Esta especie habita desde La Gayacana, departamento de Nariño en Colombia**,** hasta las provincias de Esmeraldas, Imbabura, Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos y Guayas en Ecuador. Probablemente ocurra también en zonas de las provincias de Pichincha y Cotopaxi, en elevaciones hasta los 550 m (Figura 7).

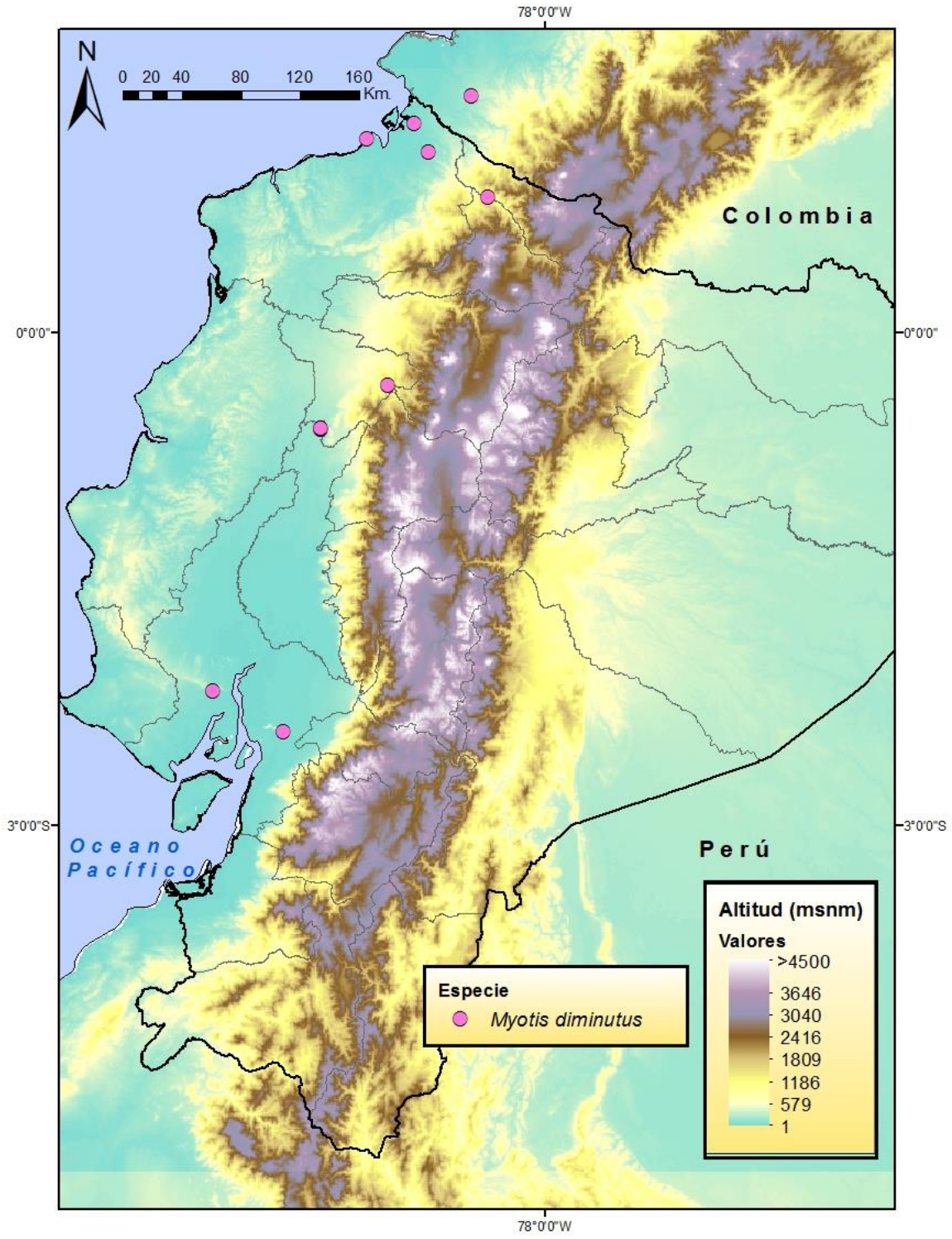


Figura 7. Mapa de las localidades de *M. diminutus*. Se muestra el mapa del Ecuador con parte de Colombia y Perú, donde los puntos rosados muestras las localidades de ocurrencia de los especímenes de *Myotis diminutus.*

Descripción enmendada: *Myotis diminutus* es la especie más pequeña registrada en este género hasta la fecha (FA: 33.86 ± 1.01 mm; peso: 4.94 ± 0.63 g; orejas pequeñas: 13.18 ± 2.03 mm); su pelaje es sedoso y largo (LDH: 4.58 ± 0.68 mm; LVH: 3.70 ± 0.61 mm); la coloración del pelaje dorsal es *clove brown*, bicolor y ligeramente contrastante; el pelaje ventral es bicolor contrastante, con una fuerte coloración *clove brown* en la base (hasta los dos tercios) y de color *deep colonial buff* en las puntas (tercio externo); existe la ausencia de una franja de pelos a lo largo del borde posterior del uropatagio (Figura 8); el plagiopatagio está unido a las patas posteriores a nivel de la base de los dedos por una banda ancha de membrana; el cráneo es pequeño (GLS: 13.17 ± 0.31 mm, MAB: 6.82 ± 0.21 mm) y estrecho (CRI: 68.38 ± 2.70 mm, MXI: 22.01 ± 1.15 mm); la parte supraoccipital y posterior de los parietales son redondeados en vista lateral, se proyectan más allá del límite de los cóndilos occipitales; el rostro está ligeramente inclinado con respecto a la caja craneal en vista lateral (Figura 9); la zona de la cresta sagital puede estar entre medianamente desarrollada hasta casi imperceptible; las crestas occipitales son bajas; el diente P3 (tercer premolar) más pequeño que el P2 (segundo premolar) (casi el 50 % de la longitud total del P2) y se encuentra visible en vista lateral (Figura 9). Las dimensiones de los especímenes conjuntamente con el holotipo y el segundo registro de la especie se proporcionan en la Tabla 3.



Figura 8. Coloración del pelaje de *Myotis diminutus* (QCAZ-M9169). La flecha blanca en vista ventral del pelaje muestra al plagiopatagio unido a las patas a nivel de la base de los dedos por una banda ancha de membrana.

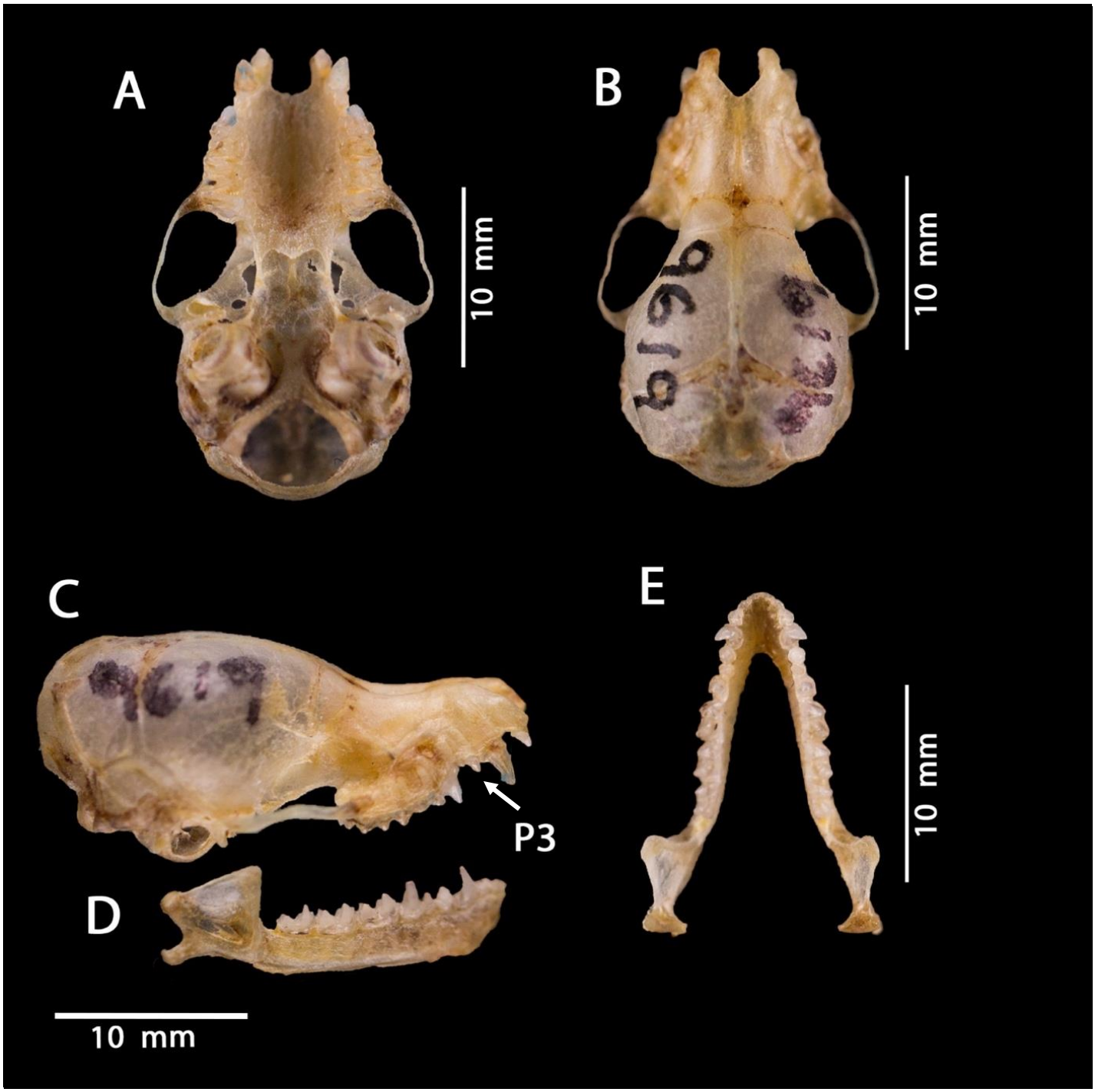


Figura 9. Cráneo de *Myotis diminutus* (QCAZ-M 9619*)* vista ventral (**A**), dorsal (**B**), lateral (**C**) del cráneo. La flecha en vista dorsal del cráneo muestra al (P3) tercer premolar, que está muy reducido. Además, se aprecia la vista lateral (**D**) y dorsal (**E**) de la mandíbula inferior. La foto de la mandíbula inferior se encuentra alineada como en el cráneo del individuo.

El cráneo es pequeño en comparación con las especies *M. oxyotus*, *M. albescens* y *M. riparius*, aunque es muy parecido a *M. nigricans* (Figura 10). La zona frontal está ligeramente elevada y es medianamente cóncava en comparación con *M. albescens,* donde el frontal es casi plano. El rostro está ligeramente inclinado con respecto a la caja craneal en vista lateral (Figura 9). El cráneo de *M. diminutus* presenta una cresta sagital que varía entre ligeramente presente a casi imperceptible dentro de los especímenes, a diferencia de *M. riparius,* que presenta una cresta sagital muy desarrollada. *M. nigricans* (localidad tipo) y *M. oxyotus* presentan una cresta sagital poco desarrollada. En el caso de *M. albescens,* la cresta sagital está ausente. Las crestas lambdoideas están presentes y varían desde poco a medianamente desarrolladas entre los individuos. En *M. riparius* y *M. oxyotus*, esta cresta está muy desarrollada, a diferencia de en *M. albescens,* donde están medianamente desarrolladas. Sin embargo, esta cresta no presenta mucha variación con respecto a *M nigricans*. La cresta occipital se encuentra ausente, al igual que en las otras especies. La región supraoccipital se encuentra proyectada más allá del límite posterior de los cóndilos occipitales, lo que es consistente para *M. riparius*, *M. oxyotus*, *M. albescens* y *M. nigricans*.

La región parietal de *M. diminutus* está ligeramente más redondeada, en comparación a *M. nigricans,* donde se encuentra en una pendiente más recta. De manera similar, *M. diminutus* presenta el parietal menos redondeado que *M. oxyotus, M. albescens* y *M. riparius*. La región occipital está ligeramente redondeada, en comparación con *M. oxyotus,* donde esta zona está altamente redondeada. Además, es menos redondeada que *M. riparius* y *M. albescens,* pero más redondeada que algunos individuos de *M. nigricans.*

Las constricciones interorbital y postorbital, son anchas. Esta característica es similar en las otras cuatro especies. Adicionalmente, en la región mandibular, el diente P3 (tercer premolar superior) está alineado con el resto de los premolares y es visible en vista lateral.

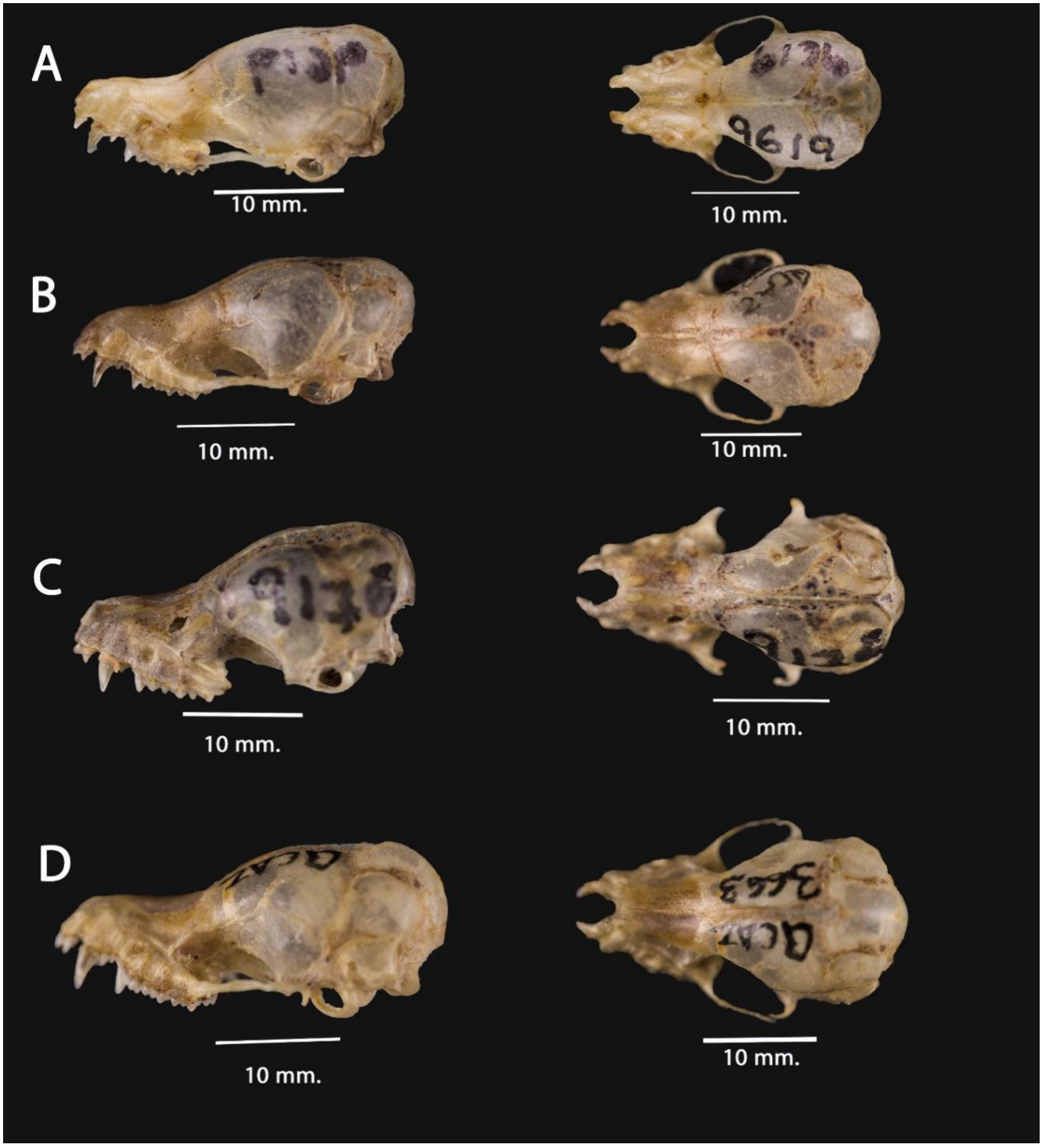


Figura 10. Diferencias en la forma y tamaño del cráneo entre cuatro especies con las que se comparó a *Myotis diminutus***. (A)** *Myotis diminutus* (QCAZ-M9619) vista lateral y vista dorsal. **(B)** *Myotis albescens* (QCAZ-M 10581) vista lateral y vista dorsal. **(C)** *Myotis riparius* (QCAZ-M 9176) vista lateral y vista dorsal. **(D)** *Myotis oxyotus* (QCAZ-M 3663) vista lateral y vista dorsal

Es importante mencionar que además de las diferencias en el tamaño entre estas especies, también existen diferencias en la forma de la mandíbula. Estas variaciones implican cambios en los procesos condilar, coronoide y angular (Figura 11A). El contorno que une al proceso condilar con el coronoide en *M. diminutus*, consiste en una línea casi recta, lo que difiere de *M. riparius*, que presenta una línea ligeramente sigmoidea (Figura 11C). En el caso de *M. albescens* y *M. oxyotus*, se observa que el contorno es parecido al de *M. diminutus*, que consiste en una línea recta. Se observa que el proceso coronoide y el proceso angular están variando ligeramente entre cada especie. La apertura que existe entre estos dos procesos es más abierta en el caso de *M. oxyotus* y el proceso angular es recto (Figura 11D), a diferencia de *M. riparius*, donde la apertura es más estrecha y da la forma de una "C" cerrada ya que el proceso angular es más grueso (Figura 11B). En el caso de *M. diminutus*, tiene una apertura abierta, el proceso angular es grueso en forma de gancho y está dirigiéndose hacia abajo (Figura 11A). A comparación de *M. albescens*, donde la apertura entre estos dos procesos es muy abierta en forma de "L", el proceso angular está dirigiéndose ligeramente hacia arriba formando una especie de gancho, aunque no tan pronunciado como *M. diminutus* (Figura 11C).

Los pequeños cambios en la región maxilar y craneal de estas especias pueden ser importantes en las distintas estrategias ecológicas de cada una, especialmente aquellas que están relacionadas con el tipo de dieta (Ospina-Garcés y De Luna, 2017). Estas variaciones están involucradas con los cambios en la inserción de músculos que intervienen en la alimentación, como el masetero (Santana et al., 2010); así como también en la inserción del músculo temporal, que se inserta en la cresta sagital, el cual está involucrado en los procesos de ecolocación (Veselka et al. 2010). En este caso, la presencia o ausencia de la cresta sagital permite identificar, de alguna manera, el tipo de forrajeo que tienen estas especies (Findley, 1972). Se podría mencionar que en *M. diminutus* y *M. riparius*, al presentar crestas sagitales más desarrolladas que *M. albescens* o *M. oxyotus*, la estrategia de alimentación está asociada a la caza de presas más pequeñas. Otra característica es la variación del tamaño y la forma craneal, la que está relacionada con la dureza de las presas (Ghazali y Dzeverin, 2013). Generalmente, un tamaño más grande se relaciona con el consumo de presas con mayor dureza (Ghazali et al., 2017). Además, la forma del proceso condilar, coronoide y angular

está relacionado con la inserción del músculo temporal, asociado a la apertura mandibular, lo que también está relacionado con la capacidad de masticar presas con mayor o menor dureza (Ospina-Garcés y De Luna, 2017). Así que se podría suponer que, por su tamaño, las presas de *M. diminutus* son pequeñas, aunque no tan suaves por lo que tiene una apertura mandibular amplia.

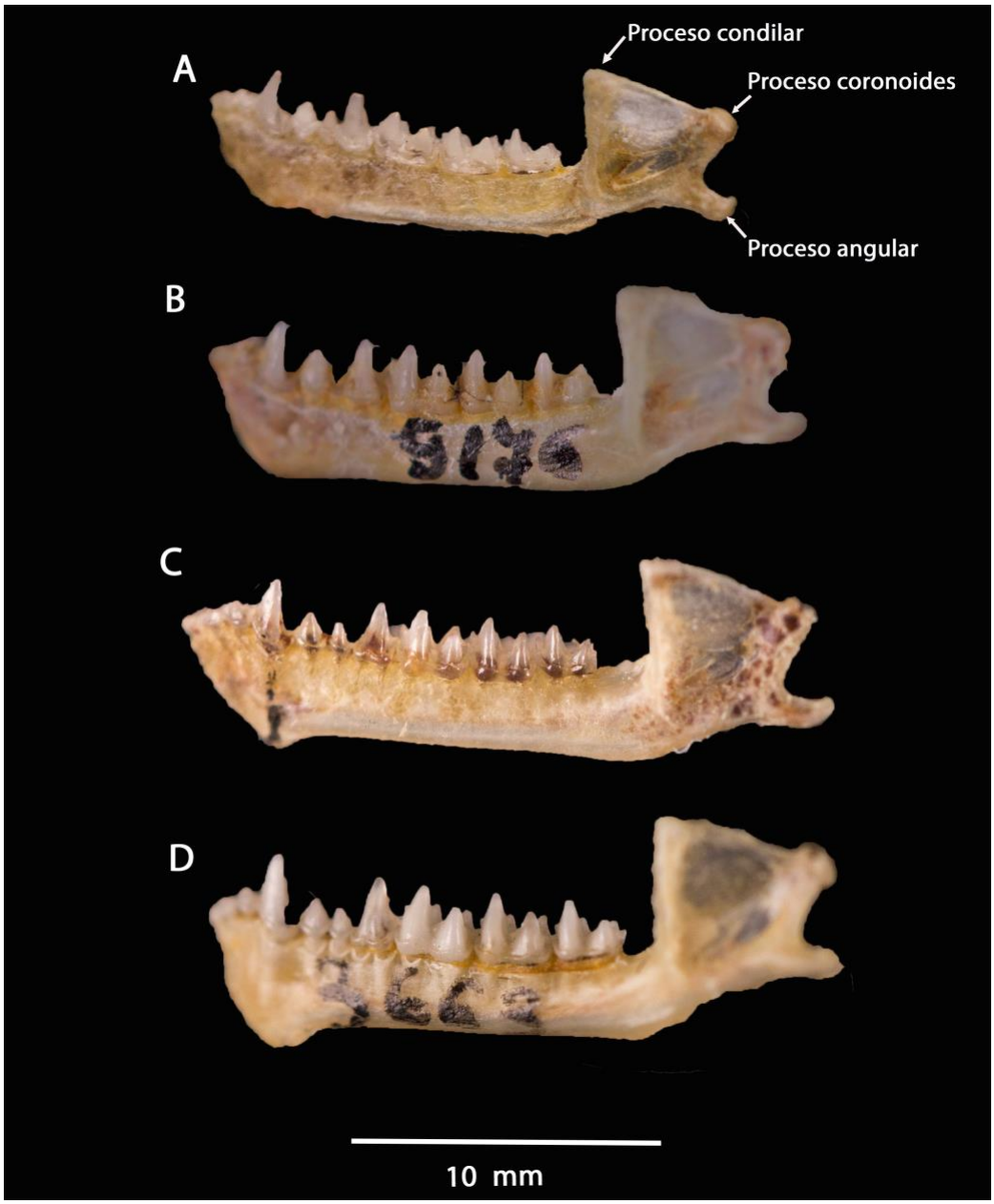


Figura 11. Diferencias en las formas de las mandíbulas entre cuatro especies con las que se comparó a *Myotis diminutus***.** Vista lateral de todas las especies **(A)** *Myotis diminutus* (QCAZ-M9619), **(B)** *Myotis riparius* (QCAZ-M 9176), **(C)** *Myotis albescens* (QCAZ-M 10581) y **(D)** *Myotis oxyotus* (QCAZ-M 3663).

Al observar los puntos de recolección se encontró que tres de cuatro especies con las que se comparó a *Myotis diminutus* comparten la misma distribución geográfica, es así como *Myotis nigricans*, *Myotis riparius* y *Myotis albescens* en la Costa del Ecuador habitan en simpatría con *Myotis diminutus* (Figura 3). Las pequeñas variaciones morfológicas que existen entre las especies que están en simpatría pueden ser explicadas debido al desplazamiento de caracteres (Brown y Wilson 1956), lo que podría explicar las pequeñas variaciones cualitativas, como el tamaño de cráneo, amplitud maxilar o las características en la medida del antebrazo, previamente mencionadas para *Myotis diminutus*. Este desplazamiento, favorece la divergencia del uso de recursos o fenotipos reproductivos, siendo una de las principales causas de divergencia adaptativa en poblaciones simpátricas, disminuyendo la competencia por el acceso a los recursos y puede generar el éxito reproductivo (Pfennig y Ryan, 2007; Pianka, 2011). Estas pequeñas variaciones morfológicas entre especies simpátricas y crípticas se han observado entre especies del género *Pteronotus*, donde se evidenció que *P. rubiginosus* era ligeramente más grande que *P. alitonus*, evitando la competencia entre estas especies (Wu et al., 2014). Además, otro estudio en especies de este género demostró que el tipo de alimento es determinante para conocer el hábitat en el que se encuentra y así evitar la competencia. Este estudio determinó que *P. austriacus* se alimenta en lugares más abiertos como áreas ribereñas, mientras que *P. auritus*, se alimenta en bosques caducifolios (Razgour et al., 2011).

Generalmente, al encontrarse en simpatría las especies, el nicho ecológico no cambia por lo que no se espera que se modifiquen caracteres morfológicos evidentes, pero presentando variaciones de comportamiento, lo que es común dentro de Vespertilionidae (Lack y Van Den Bussche, 2010). Se ha observado que especies crípticas y simpátricas dentro de género *Myotis* evitan la competencia cambiando el tipo de alimento y así el mecanismo de caza. Esta investigación concluyó que *Myotis myotis* es experto en la captura de presas sobre la superficie del suelo en zonas abiertas ya que se alimenta de escarabajos, mientras que *Myotis blynthii* caza su alimento en zonas de pastizales, un poco más cerradas ya que sus preferencias son los grillos (Arlettaz et al., 1997).

Los rasgos ecológicos, en este caso pueden ser determinantes para poder diferenciar taxonómicamente a estas especies ya que muchas de las especies crípticas se encuentran cohabitando en simpatría, evitando así la competencia (Filippi-Codaccioni et al., 2018; Novaes et al., 2018). Estas variaciones en el comportamiento pueden ser cruciales para separar especies crípticas que habitan en simpatría (Mayer y Von Helversen, 2001). En Chiroptera, las variaciones en los requisitos ecológicos de dos especies del género de murciélagos europeos *Pispistrellus*, como la frecuencia en las llamadas de ecolocación, permitió diferenciar entre dos especies altamente crípticas y simpátricas como *Pispistrellus pipistrellus* y *Pispistrellus pygmaeus* (Davidson-Watts, Walls y Jones, 2006) (Mayer y Von Helversen, 2001).

Uno de los rasgos ecológicos que puede estar diferenciando a *Myotis diminutus* de las especies con las que cohabita es el tipo de alimentación y el tipo de vuelo que posee. Se puede reconocer que *Myotis diminutus* corresponde una especie insectívora y al igual que las otras especies de *Myotis*, son de vuelo alto (Norberg y Rayner, 1987; Siemers, Stilz y Schnitzler, 2001; Siemers, Baur y Schnitzler, 2005). Al ser especies forrajeadoras de vuelo alto, las variaciones en el tamaño del cráneo y de peso influyen sobre la altura a la que cazan para alimentarse (Fenton, 1974; Fenton y Bogdanowicz, 2002; Siemers et al., 2005, 2001). *Myotis diminutus*, al ser la especie más pequeña y de menor peso, podría volar más altura, en comparación con las otras especies. El tamaño y forma de *M. diminutus*, como alas generalmente cortas, le puede ayudar a la maniobrabilidad en el tipo de vegetación en el que habita (Ruedi y Mayer, 2001). Estas pequeñas variaciones fenotípicas separarían a las especies en distintos estratos altitudinales, donde la disponibilidad de alimento también va a variar evitando competencia entre sí (Siemers et al. 2001; Fenton 2002).

5.5.Clave de identificación

1a. Presencia de pelos en el borde del uropatagio…….……*Myotis albescens*

1b. Ausencia de pelos en el borde del uropatagio…….…….2

2a. Presencia de la cresta sagital desarrollada…….*Myotis riparius*

2b. Ausencia o presencia de una ligera cresta sagital ……..……...……..3

3a. Largo del antebrazo mayor a 35 mm. Índice craneal mayor a 80 mm, índice maxilar superior a 25 mm……...…….…*Myotis oxyotus*

3b. Largo del antebrazo menor a 35 mm. Índice craneal menor a 80 mm, índice maxilar menor a 25 mm…….……4

4a. Índice craneal menor a 70 mm ....……..……..…..….. *Myotis diminutus*

4b. Índice craneal superior a 70 mm ……..……..*Myotis nigricans*

5.6.Estado de conservación

Los registros de *Myotis diminutus* que se encuentran en el museo QCAZ-M están limitados a la provincia de Los Ríos, siendo esta la localidad tipo (Moratelli y Wilson, 2011). Pero gracias a individuos de esta especie de otras colecciones se conoce que su distribución abarca la mayoría de las provincias de la Costa ecuatoriana. Estos registros están limitados a ecosistemas de la Costa que se encuentran relacionados a zonas de bosque tropical y deciduo de esta región. Esta especie se encuentra con mayor frecuencia en la zona que corresponde al Bosque de Chocó del Ecuador, Bosque Piemontano Occidental, zonas de bosque deciduo en Guayas y manglares en Esmeraldas. Estas regiones tienen altas temperaturas y la mayoría son regiones húmedas con gran cantidad de vegetación (Myers et al., 2000).

Esta variedad de ambientes permite que la alimentación de los individuos de *Myotis* sea, hasta cierto punto, generalista con respecto al tipo de forrajeo que tienen (Fenton, 1974). Debido a que se encontró simpatría en ciertos puntos de estas regiones, los individuos deben ser flexibles con respecto al tipo de forrajeo para evitar competencia (Fenton y Bogdanowicz, 2002; Srinivasulu y Jones, 2019).

Los resultados muestran que la distribución de la especie está localizada en parches de vegetación remanentes que poseen bosque primario en la Costa ecuatoriana del corredor biológico Tumbes-Chocó-Magdalena que posee alrededor de 135,000 km2 (Cueva et al., 2019). La mayoría de las zonas, con la presencia del ser humano, están compuestas por hábitats matriciales y la calidad de las mismas puede intensificarse por el uso constante de las actividades agrarias, o mitigarse por efectos de las actividades agroforestales (Farneda, Meyer y Grelle, 2020). Estos hábitats corresponden a un conjunto entre zonas de pastoreo, agricultura y bosque secundario en desarrollo, muy distintos a los bosques primarios (Driscoll et al., 2013). La reducción de hábitat muestra una considerable reducción de la diversidad de murciélagos, y cambios fuertes de rasgos funcionales (Gonçalves, Fischer y Dirzo, 2017).

La presencia de los parches de pastizales que se han convertido en tierras de cultivo o ganadería tiene una influencia sobre los requisitos alimentarios necesarios para cada especie de murciélago, ya que afectan principalmente a sus especies insectívoras (Farneda, Meyer y Grelle, 2020). Por lo tanto, es muy importante la conservación de esta zona, debido a los servicios ecosistémicos asociados a las especies de murciélagos que la habitan (Pereira y Daily, 2006). Una de las estrategias de conservación en paisajes modificados es preservar grandes áreas de bosques primarios (Farneda et al., 2015), así como los sistemas agroforestales, que son responsables con la biodiversidad, proporcionando refugios y alimento para las diferentes comunidades de murciélagos (García-Morales, Badano, y Moreno, 2013).

Un punto importante en la conservación de estas especies son los datos de campo que se tengan, ya que la falta de colecciones científicas hace más difícil la conservación de las especies, pues al no haber registros pueden existir identificaciones erróneas, como sucede en el caso de *Myotis diminutus*. Esto impide conocer la diversidad real de esta zona.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los análisis en este estudio, tanto morfológicos como moleculares, permitieron apoyar la hipótesis de *Myotis diminutus* como una especie válida. Se observó que morfológicamente *M. diminutus* es la especie más pequeña del género *Myotis* en Sudamérica. Los análisis cualitativos mostraron que existe variación a nivel de la mandíbula, específicamente lo que corresponde a los procesos condilar, coronoide y angular, lo que da un indicio sobre el efecto de la alimentación en la de divergencia entre las especies. En *Myotis diminutus*, al tratarse de una especie críptica, no ha sido sorprendente encontrar errores en la identificación taxonómica, por lo que es recomendable realizar estudios ecológicos para poder diferenciar a las especies que se encuentran en esta región. Es especialmente necesario enfocarse en el tipo de dieta de cada una de las especies que se encuentran en simpatría con *M. diminutus* ya que, al ser todas insectívoras, el tipo de insecto del cual se alimentan podrían estar determinando el tipo de dieta al que se encuentran adaptados.

Los datos moleculares nos permitieron observar que *M. diminutus* presenta una estrecha relación taxonómica con individuos de Perú, en especial con un espécimen cuya especie no se ha identificado aún. Además, al igual que en estudios anteriores con Citocromo b, se observó que la cercanía geográfica representa de mejor manera las relaciones taxonómicas que la cercanía morfológica, en este grupo. También se determinó que las especies de *Myotis* de la Costa ecuatoriana muestran una mayor cercanía con las especies de Centroamérica.

Debido a que en se mostró discordancia entre los árboles de los dos criterios evolutivos, se recomienda utilizar otros tipos de genes que nos permitan demostrar las relaciones entre especies. En este caso, usar otro tipo de marcadores nucleares nos permitiría resolver las relaciones dentro de *M. diminutus*.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albuja, V., y Gardner, A. (2005). A new species of Lonchophylla Thomas (Chiroptera: Phyllostomidae) from Ecuador. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 118, 442-449.

Alves Rodrigues Pinheiro, E., Metselaar, K., de Jong van Lier, Q., y de Araújo, J. C. (2016). Importance of soil-water to the Caatinga biome, Brazil. *Ecohydrology*, 9(7), 1313–1327.

Aquino, R., Zárate, R., López, L., García, G., y Charpentier, E. (2015). Current status and threats to Lagothrix flavicauda and other primates in montane forest of the Región Huánuco. *Primate Conservation*, 2015(29), 31-41.

Arlettaz, R., Perrin, N., y Hausser, J. (1997). Trophic resource partitioning and competition between the two sibling bat species Myotis myotis and Myotis blythii. Journal of animal ecology, 897-911.

Baker, R. J., Bininda-Emonds, O. R., Mantilla-Meluk, H., Porter, C. A., y Van Den Bussche, R. A. (2012). Molecular timescale of diversification of feeding strategy and morphology in New World leaf-nosed bats (Phyllostomidae): a phylogenetic perspective. *Evolutionary history of bats: fossils, molecules and morphology*, 385-409.

Basantes Garcés, M. F. (2018). Caracterización morfológica y morfométrica del Murciélago de orejas redondas de cabeza rayada Tonatia saurophila (Phyllostomidae: Chiroptera) (Bachelor's thesis, PUCE-Quito).

Benson, D., Boguski, M., Lipman, D., Ostell, J., Ouellette, B., Rapp, B., y Wheeler, D. (1999). GenBank. Nucleic acids research, 27(1), 12.

Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. y Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology y evolution*, *22*(3), 148-155.

Bornholdt, R., Oliveira, L. R. D., y Fabián, M. E. (2008). Size and shape variability in the skull of Myotis nigricans (Schinz, 1821) (Chiroptera: Vespertilionidae) from two geographic areas in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, *68*(3), 623-631.

Bradley, R. D., y Baker, R. J. (2001). A test of the genetic species concept: cytochrome-b sequences and mammals. *Journal of mammalogy*, *82*(4), 960-973.

Brown, W. M. (1980). Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 77(6), 3605-3609.

Brush, S. B. (1982). The natural and human environment of the central Andes. *Mountain Research and Development*, 19-38.

Bryant, D. (2003). A classification of consensus methods for phylogenetics. *DIMACS series in discrete mathematics and theoretical computer science*, *61*, 163-184.

Burgin, C. J., Colella, J. P., Kahn, P. L., y Upham, N. S. (2018). How many species of mammals are there?. *Journal of Mammalogy*, *99*(1), 1-14.

Cadima, J. F., y Jolliffe, I. T. (1996). Size-and shape-related principal component analysis. *Biometrics*, 710-716.

Charrad, M., Ghazzali, N., Boiteau, V., y Niknafs, A. (2014). Determining the number of clusters using NbClust package. *MSDM 2014*, 1.

Clare, E. L. (2011). Cryptic species? Patterns of maternal and paternal gene flow in eight Neotropical bats. *PLoS One*, *6*(7).

Clare, E. L., Lim, B. K., Engstrom, M. D., Eger, J. L., y Hebert, P. D. (2007). DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes*, *7*(2), 184-190.

Clare, E. L., Lim, B. K., Fenton, M. B., y Hebert, P. D. (2011). Neotropical bats: estimating species diversity with DNA barcodes. *PloS one*, *6*(7).

Coltorti, M., y Ollier, C. D. (2000). Geomorphic and tectonic evolution of the Ecuadorian Andes. *Geomorphology*, *32*(1-2), 1-19.

Corruccini, R. S. (1987). Shape in morphometrics: comparative analyses. *American Journal of Physical Anthropology*, 73(3), 289-303.

Coyne, J. A. (2011). Speciation in a small space. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(32), 12975-12976.

Critical Ecosystem Partnership Fund (2001). Perfil del ecosistema Corredor de Conservación Chocó-Darién-Ecuador Occidental (Hotspot), Colombia y Ecuador.

Cueva Ortiz, J., Espinosa, C. I., Quiroz Dahik, C., Aguirre Mendoza, Z., Cueva Ortiz, E., Gusmán, E., Weber, M. y Hildebrandt, P. (2019). Influence of anthropogenic factors on the diversity and structure of a dry forest in the Central Part of the Tumbesian Region (Ecuador–Perú). *Forests*, *10*(1), 31.

Czaplewski, N. J., Takai, M., Naeher, T. M., Shigehara, N., y Setoguchi, T. (2003). Additional bats from the middle Miocene La Venta fauna of Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, *27*(103), 263-282.

Davidson-Watts, I., Walls, S., y Jones, G. (2006). Differential habitat selection by Pipistrellus pipistrellus and Pipistrellus pygmaeus identifies distinct conservation needs for cryptic species of echolocating bats. *Biological conservation*, *133*(1), 118-127.

Dayan, T., y Simberloff, D. (2005). Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecology Letters*, *8*(8), 875-894.

De la Torre, F., y Kanade, T. (2006). Discriminative cluster analysis. In *Proceedings of the 23rd international conference on Machine learning*, 241-248.

Díaz, M. M., Solari, S., Aguirre, L. F., Aguiar, L., y Barquez, R. M. (2016). Clave de Identificación de los murciélagos de Sudamérica–Chave de identificação dos morcegos da America do Sul. *Publicación Especial Nro*, *2*.

Ding, C., y Li, T. (2007). Adaptive dimension reduction using discriminant analysis and K-means clustering. In *Proceedings of the 24th international conference on Machine learning*, 521-528.

Driscoll, D. A., Banks, S. C., Barton, P. S., Lindenmayer, D. B., y Smith, A. L. (2013). Conceptual domain of the matrix in fragmented landscapes. *Trends in ecology y evolution*, *28*(10), 605-613.

Drummond A.J. y Rambaut A. (2009). Bayesian evolu- tionary analysis by sampling trees. *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. P. Lemey, Salemi M. and Vandamme A.-M. New York, Cambridge University Press: 564-574.

Farneda, F. Z., Meyer, C. F., y Grelle, C. E. (2020). Effects of land-use change on functional and taxonomic diversity of Neotropical bats. *Biotropica*, *52*(1), 120-128.

Farneda, F. Z., Rocha, R., López-Baucells, A., Groenenberg, M., Silva, I., Palmeirim, J. M., Bobrowiec, P. E., y Meyer, C. F. (2015). Trait-related responses to habitat fragmentation in Amazonian bats. *Journal of Applied Ecology*, *52*(5), 1381-1391.

Fenton, M. (1974). Feeding ecology of insectivorous bats. *Bios*, 3-15.

Fenton, M. B., y Bogdanowicz, W. (2002). Relationships between external morphology and foraging behaviour: bats in the genus Myotis. *Canadian Journal of Zoology*, *80*(6), 1004-1013.

Filippi-Codaccioni, O., Beugin, M. P., de Vienne, D. M., Portanier, E., Fouchet, D., Kaerle, C., Muselet, L., Queney, G., Petit, E. J., Regis, C., Portier, D., y Pons, J. B. (2018). Coexistence of two sympatric cryptic bat species in French Guiana: insights from genetic, acoustic and ecological data. *BMC evolutionary biology*, *18*(1), 175.

Findley, J. S. (1972). Phenetic relationships among bats of the genus Myotis. *Systematic Biology*, *21*(1), 31-52.

Fišer, C., Robinson, C. T., y Malard, F. (2018). Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. *Molecular Eyology*, *27*(3), 613-635.

Fortini, P., y Luko, S. (2011). Statistical standards and ASTM, Part 4. *Quality Engineering*, *23*(3), 309-313.

Fraley, C., y Raftery, A. E. (2002). Model-based clustering, discriminant analysis, and density estimation. *Journal of the American statistical Association*, *97*(458), 611-631.

Freeman, P. W. (1998). Form, function, and evolution in skulls and teeth of bats. *Papers in Natural Resources*, 9.

Galar, D., y Kumar, U. (2017). *EMaintenance: Essential electronic tools for efficiency*. Academic Press.

García-Morales, R., Badano, E., y Moreno, C. (2013). Response of Neotropical bat assemblages to human land use. *Conservation Biology*, *27*(5), 1096-1106.

Gardner, A. L. (Ed.). (2008). *Mammals of South America, volume 1: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats* (Vol. 2). University of Chicago Press.

Ghazali, M., Moratelli, R., y Dzeverin, I. (2017). Ecomorph evolution in Myotis (Vespertilionidae, Chiroptera). *Journal of Mammalian Evolution*, *24*(4), 475-484.

Ghazali, M., y Dzeverin, I. (2013). Correlations between hardness of food and craniodental traits in nine Myotis species (Chiroptera, Vespertilionidae). *Vestnik zoologii*, *47*(1), 67-76.

Gonçalves, F., Fischer, E., y Dirzo, R. (2017). Forest conversion to cattle ranching differentially affects taxonomic and functional groups of Neotropical bats. *Biological conservation*, *210*, 343-348.

Gouge, D. (2015). Bats. University of Arizona Cooperative Extension Service and Agricultural Experiment Station Bulletin, (11).

Gregory-Wodzicki, K. M. (2000). Uplift history of the Central and Northern Andes: a review. *Geological society of America bulletin*, *112*(7), 1091-1105.

Haarsma, A. J. (2008). Manual for assessment of reproductive status, age and health in European Vespertilionid bats. *Electronic publication, version*, *2*.

Hair, J., y Anderson, R. (1995). Multivariate data analysis. Prentice-Hall Inc: New Jersey.

Hammer, Ø., Harper, D. A., y Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, *4*(1), 9.

Hansen, M. C., Potapov, P. V., Moore, R., Hancher, M., Turubanova, S. A., Tyukavina, A., Thau, D., Stehman, S. V., Goetz, S. J., Loveland, T. R., Kommareddy, A., Egorov, A., Chini, L., Justice, C. O., y Townshend, J. R. G. (2013). High-resolution global maps of 21st-century forest cover change. *science*, *342*(6160), 850-853.

Healey, J., y Prus, S. (2009). Statistics: A Tool for Social Research. Nelson Education.

Hoffmann, F. G., y Baker, R. J. (2001). Systematics of bats of the genus Glossophaga (Chiroptera: Phyllostomidae) and phylogeography in G. soricina based on the cytochrome-b gene. *Journal of Mammalogy*, *82*(4), 1092-1101.

Hoffmann, F. G., y Baker, R. J. (2003). Comparative phylogeography of short-tailed bats (Carollia: Phyllostomidae). *Molecular Ecology*, *12*(12), 3403-3414.

Holland, S. M. (2008). Principal components analysis (PCA). *Department of Geology, University of Georgia, Athens, GA*, 30602-2501.

Hoofer, S. R., y Van Den Bussche, R. A. (2003). Molecular phylogenetics of the chiropteran family Vespertilionidae. *Acta Chiropterologica 5*(5),1–63.

Huang, H., He, Q., Kubatko, L. S., y Knowles, L. L. (2010). Sources of error inherent in species-tree estimation: impact of mutational and coalescent effects on accuracy and implications for choosing among different methods. *Systematic Biology*, *59*(5), 573-583.

Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F., Nielsen, R., y Bollback, J. P. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *science*, *294*(5550), 2310-2314.

Huelsenbeck, J. P., y Crandall, K. A. (1997). Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *28*(1), 437-466.

Hyvärinen, A. (2015). A unified probabilistic model for independent and principal component analysis. In *Advances in Independent Component Analysis and Learning Machines* (pp. 75-82). Academic Press.

Jahn, O. (2011). Birds and mammals as indicators for the conservation status of tropical forests in the Ecuadorian Chocó. En: *Tropical Vertebrates in a Changing World*. *Bonner Zoologische Monographien* 57(57): 169–184.

Johns, G. C., y Avise, J. C. (1998). A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular biology and evolution*, *15*(11), 1481-1490.

Johnson, A. D. (2010). An extended IUPAC nomenclature code for polymorphic nucleic acids. *Bioinformatics*, *26*(10), 1386-1389.

Johnson, R. A., y Wichern, D. W. (2002). *Applied multivariate statistical analysis* (Vol. 5, No. 8). Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.

Jolliffe, I. T., y Cadima, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, *374*(2065), 20150202.

Jombart, T., Devillard, S., y Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, *11*(1), 94.

Jüngers, W. L., Falsetti, A. B., y Wall, C. E. (1995). Shape, relative size, and size-adjustments in morphometries. *Yearbook of Physical Anthropology*, 38, 137-161.

Kälersjö, M., Albert, V. A., y Farris, J. S. (1999). Homoplasy increases phylogenetic structure. *Cladistics*, *15*(1), 91-93.

Katoh, K., y Toh, H. (2010). Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics*, *26*(15), 1899-1900.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer T., Ashton, B., Meintjes, P., y Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, *28*(12), 1647-1649.

Kim, J. O., y Mueller, C. W. (1978). *Factor analysis: Statistical methods and practical issues* (No. 14).

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, *16*(2), 111-120.

Koopman, K. F. (1978). Zoogeography of Peruvian bats with special emphasis on the role of the Andes. *American Museum Novitates, 2651*, 1–33.

La Val, R. K. (1973). A revision of the Neotropical bats of the genus *Myotis*. *Nat. Hist. Mus. Los Angeles Co., Sci. Bull.*, 15:1-54.

Lack, J. B., Roehrs, Z. P., Stanley Jr, C. E., Ruedi, M., y Van Den Bussche, R. A. (2010). Molecular phylogenetics of Myotis indicate familial-level divergence for the genus Cistugo (Chiroptera). *Journal of Mammalogy*, *91*(4), 976-992.

Lack, J. B., y Van Den Bussche, R. A. (2010). Identifying the confounding factors in resolving phylogenetic relationships in Vespertilionidae. *Journal of Mammalogy*, *91*(6), 1435-1448.

Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., y Guindon, S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, *29*(6), 1695-1701.

Larsen, R. J., Knapp, M. C., Genoways, H. H., Khan, F. A. A., Larsen, P. A., Wilson, D. E., y Baker, R. J. (2012b). Genetic diversity of Neotropical Myotis (Chiroptera: Vespertilionidae) with an emphasis on South American species. *PloS one*, *7*(10).

Larsen, R. J., Larsen, P. A., Genoways, H. H., Catzeflis, F. M., Geluso, K., Kwiecinski, G. G., Pedersen, S. C., Simal, F., y Baker, R. J. (2012a). Evolutionary history of Caribbean species of Myotis, with evidence of a third Lesser Antillean endemic. *Mammalian Biology*, *77*(2), 124-134.

Leck, C. F. (1979). Avian extinctions in an isolated tropical wet-forest preserve, Ecuador. *The Auk*, *96*(2), 343-352.

Lemmon, A. R., Brown, J. M., Stanger-Hall, K., y Lemmon, E. M. (2009). The effect of ambiguous data on phylogenetic estimates obtained by maximum likelihood and Bayesian inference. *Systematic biology*, *58*(1), 130-145.

Lim, B. K. (2007). Divergence times and origin of neotropical sheath-tailed bats (Tribe Diclidurini) in South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *45*(3), 777-791.

López-González, C., Presley, S. J., Owen, R. D., y Willig, M. R. (2001). Taxonomic status of Myotis (Chiroptera: vespertilionidae) in Paraguay. *Journal of Mammalogy*, *82*(1), 138-160.

López-Aguirre, C., Hand, S. J., Laffan, S. W., y Archer, M. (2018). Phylogenetic diversity, types of endemism and the evolutionary history of New World bats. *Ecography*, *41*(12), 1955-1966.

López-Aguirre, C., Hand, S. J., Laffan, S. W., y Archer, M. (2019). Zoogeographical regions and geospatial patterns of phylogenetic diversity and endemism of New World bats. *Ecography*, *42*(6), 1188-1199.

López, S., Sierra, R., y Tirado, M. (2010). Tropical deforestation in the Ecuadorian Chocó: logging practices and socio-spatial relationships. *The Geographical Bulletin*, *51*(1), 3.

Luzzatto, A. (2019). A Deterministic Insight on Principal Component Analysis (PCA).

Maddison, W., y DR., M. (2018). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version, 3(4).

Magidson, J., y Vermunt, J. (2002). Latent class models for clustering: A comparison with K-means. *Canadian Journal of Marketing Research*, *20*(1), 36-43.

Mares, M. A., Willig, M. R., y Lacher Jr, T. E. (1985). The Brazilian Caatinga in South American zoogeography: tropical mammals in a dry region. *Journal of Biogeography*, 57-69.

Mayer, F., y Helversen, O. V. (2001). Sympatric distribution of two cryptic bat species across Europe. *Biological Journal of the Linnean Society*, *74*(3), 365-374.

Meyer, A. (1994). Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. *Trends in Ecology y Evolution*, *9*(8), 278-280.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., y Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *2010 gateway computing environments workshop (GCE)* (pp. 1-8).

Ministerio de Ambiente del Ecuador (2013). *Sistema de Clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. Quito, Ecuador, Subsecretaría de Patrimonio Natural.

Ministerio de Ambiente del Ecuador (2015). *Sistema Nacional de Control Forestal*. Quito, Ecuador, Subsecretaría de Patrimonio Natural.

Moratelli, R., de Andreazzi, C. S., de Oliveira, J. A., y Cordeiro, J. L. P. (2011). Current and potential distribution of Myotis simus (Chiroptera, Vespertilionidae). *Mammalia*, *75*(3), 227-234.

Moratelli, R., Gardner, A. L., De Oliveira, J. A., y Wilson, D. E. (2013). Review of Myotis (Chiroptera, Vespertilionidae) from northern South America, including description of a new species. *American Museum Novitates*, *2013*(3780), 1-36.

Moratelli, R., Peracchi, A. L., Dias, D., y de Oliveira, J. A. (2011). Geographic variation in South American populations of Myotis nigricans (Schinz, 1821)(Chiroptera, Vespertilionidae), with the description of two new species. *Mammalian Biology*, *76*(5), 592-607.

Moratelli, R., Wilson, D. E., Novaes, R. L., Helgen, K. M., y Gutiérrez, E. E. (2017). Caribbean Myotis (Chiroptera, Vespertilionidae), with description of a new species from Trinidad and Tobago. *Journal of Mammalogy*, *98*(4), 994-1008.

Moratelli, R., y Wilson, D. E. (2011). A new species of Myotis Kaup, 1829 (Chiroptera, Vespertilionidae) from Ecuador. *Mammalian Biology*, *76*(5), 608-614.

Moratelli, R., y Wilson, D. E. (2015). A second record of Myotis diminutus (Chiroptera: Vespertilionidae): its bearing on the taxonomy of the species and discrimination from M. nigricans. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, *127*(4), 533-542.

Moravec, J., Šmíd, J., Štundl, J., y Lehr, E. (2018). Systematics of Neotropical microteiid lizards (Gymnophthalmidae, Cercosaurinae), with the description of a new genus and species from the Andean montane forests. *ZooKeys*, (774), 105.

Morgan, G. S., y Czaplewski, N. J. (2012). Evolutionary history of the Neotropical Chiroptera: the fossil record. *Evolutionary history of bats: fossils, molecules and morphology*, 105-161.

Morissette, L., y Chartier, S. (2013). The K-means clustering technique: General considerations and implementation in Mathematica. *Tutorials in Quantitative Methods for Psychology*, *9*(1), 15-24.

Munro, B. H. (2005). *Statistical methods for health care research* (Vol. 1). Lippincott Williams yWilkins.

Muñoz Arango, J. (1990). Diversidad y hábitos alimenticios de nurciélagos en transectos altitudinales a través de la Cordillera Central de Los Andes en Colombia. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, *25*(1), 1-17.

Muñoz, J. M. S. (2016). Análisis de Calidad Cartográfica mediante el estudio de la Matriz de Confusión. *Pensamiento Matemático*, *6*(2), 9-26.

Mushtaq, I., y Khan, S. (2012). Factors Affecting Students' Academic Performance. *Global Journal of Management and Business Research*, *12*(9), 17-22.

Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., y Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, *403*(6772), 853.

Myers, P. (1978). Sexual dimorphism in size of vespertilionid bats. *The American Naturalist*, *112*(986), 701-711.

Norberg, U. M., y Rayner, J. M. (1987). Ecological morphology and flight in bats (Mammalia; Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and

echolocation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *316*(1179), 335-427.

Novaes, R. L. M., Wilson, D., Ruedi, M., y Moratelli, R. (2018). The taxonomic status of Myotis aelleni Baud, 1979 (Chiroptera, Vespertilionidae). *Zootaxa*, *4446*(2), 257-264.

Nowak, R., y Walker, E. (1999). Walker's mammals of the world. Choice Reviews Online.

Ospina-Garcés, S. M., y De Luna, E. (2017). Phylogenetic analysis of landmark data and the morphological evolution of cranial shape and diets in species of Myotis (Chiroptera: Vespertilionidae). *Zoomorphology*, *136*(2), 251-265.

Park, K., Masters, E., y Altringham, J. (1998). Social structure of three sympatric bat species (Vespertilionidae). *Journal of Zoology*, *244*(3), 379-389.

Patterson, B. D., Pacheco, V., y Ashley, M. V. (1992). On the origins of the western slope region of endemism: systematics of fig-eating bats, genus Artibeus. *Memorias del Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima)*, *21*, 189-205.

Pavan, A. C., y Marroig, G. (2016). Integrating multiple evidences in taxonomy: species diversity and phylogeny of mustached bats (Mormoopidae: Pteronotus). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *103*, 184-198.

Peña, D. (2002). Análisis de Datos Multivariantes. Madrid: McGraw Hills.

Pereira, H. M., y Daily, G. C. (2006). Modeling biodiversity dynamics in countryside landscapes. *Ecology*, *87*(8), 1877-1885.

Pfennig, K. S., y Ryan, M. J. (2007). Character displacement and the evolution of mate choice: an artificial neural network approach. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *362*(1479), 411-419.

Pianka, E. (2011). Evolutionary ecology. Eric R. Pianka.

Platt, R. N., Faircloth, B. C., Sullivan, K. A., Kieran, T. J., Glenn, T. C., Vandewege, M. W., Thomas, E. L. Jr., Backer, R., Stevens, R. D., y Ray, D. A. (2018). Conflicting evolutionary histories of the mitochondrial and nuclear genomes in New World Myotis bats. *Systematic biology*, *67*(2), 236-249.

Poore, J., y Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, *360*(6392), 987-992.

Rambaut, A. (2009). FigTree v1. 3.1: Tree figure drawing tool.

Ray, D. A., Pagan, H. J., Thompson, M. L., y Stevens, R. D. (2007). Bats with hAT s: evidence for recent DNA transposon activity in genus Myotis. *Molecular biology and evolution*, *24*(3), 632-639.

Razgour, O., Clare, E. L., Zeale, M. R., Hanmer, J., Schnell, I. B., Rasmussen, M., Gilbert, T. P, y Jones, G. (2011). High-throughput sequencing offers insight into mechanisms of resource partitioning in cryptic bat species. *Ecology and evolution*, *1*(4), 556-570.

Ridgway, R. (1912). Color standards and color nomenclature Washington. *DC: The Author*.

Rival, L. (2004). Partnerships for Sustainable Forest management: lessons from the Ecuadorian chocó. Working Paper 118. *QEH Working Paper Series*. University of Oxford.

Rocha, L. A., Aleixo, A., Allen, G., Almeda, F., Baldwin, C. C., Barclay, M. V. L. et al., (2014). Specimen collection: An essential tool. *Science*, 344(6186), 814–815.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., y Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, *61*(3), 539-542.

Ruedi, M., y Mayer, F. (2001). Molecular systematics of bats of the genus Myotis (Vespertilionidae) suggests deterministic ecomorphological convergences. *Molecular phylogenetics and evolution*, *21*(3), 436-448.

Sánchez, J. (2017). Introducción a la Estadística no Paramétrica y al Análisis Multivariado. *Quito, Ecuador*, 84-276.

Santana, S. E., Dumont, E. R., y Davis, J. L. (2010). Mechanics of bite force production and its relationship to diet in bats. *Functional Ecology*, *24*(4), 776-784.

Schinz, H. R. (1821). Das Thierreich nach dem Bau der Thiere als Grundlage ihrer Naturgeschichte und der vergleichenden Anatonie von dem Herrn Ritter von Cuvier. *Erster Band. Säugerthiere and Vögel. JG Cotta'schen Buchhandlung, Stuttgart and Tübingen*, Germany.

Schnitzler, H. U., Moss, C. F., y Denzinger, A. (2003). From spatial orientation to food acquisition in echolocating bats. *Trends in Ecology y Evolution*, *18*(8), 386-394.

Schon, E. A. (2000). Mitochondrial genetics and disease. *Trends in biochemical sciences*, *25*(11), 555-560.

Senar, J. C. (1999). La medición de la repetibilidad y el error de medida. *Etologuía*, *17*, 53-64.

Siemers, B. M., Baur, E., y Schnitzler, H. U. (2005). Acoustic mirror effect increases prey detection distance in trawling bats. *Naturwissenschaften*, *92*(6), 272-276.

Siemers, B. M., Stilz, P., y Schnitzler, H. U. (2001). The acoustic advantage of hunting at low heights above water: behavioural experiments on the European 'trawling' bats Myotis capaccinii, M. dasycneme and M. daubentonii. *Journal of Experimental Biology*, *204*(22), 3843-3854.

Solano, H. L., y Álvarez, C. R. (2005). *Estadística descriptiva y distribuciones de probabilidad*. Universidad del Norte.

Solari, S., y Martínez-Arias, V. (2014). Cambios recientes en la sistemática y taxonomía de murciélagos Neotropicales (Mammalia: Chiroptera). *Therya*, *5*(1), 167-196.

Srinivasulu, C., Srinivasulu, A., Srinivasulu, B., y Jones, G. (2019). Integrated approaches to identifying cryptic bat species in areas of high endemism: The case of Rhinolophus andamanensis in the Andaman Islands. *PloS one*, *14*(10).

Srivathsan, A., y Meier, R. (2012). On the inappropriate use of Kimura-2-parameter (K2P) divergences in the DNA-barcoding literature. *Cladistics*, *28*(2), 190-194.

Stadelmann, B., Lin, L. K., Kunz, T. H., y Ruedi, M. (2007). Molecular phylogeny of New World Myotis (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, *43*(1), 32-48.

Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, *30*(9), 1312-1313.

Strait, S. G. (1993). Differences in occlusal morphology and molar size in frugivores and faunivores. *Journal of Human Evolution*, *25*(6), 471-484.

Syakur, M. A., Khotimah, B. K., Rochman, E. M. S., y Satoto, B. D. (2018). Integration K-means clustering method and elbow method for identification of the best customer profile cluster. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 336, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., y Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, *30*(12), 2725-2729.

Tharwat, A., Gaber, T., Ibrahim, A., y Hassanien, A. E. (2017). Linear discriminant analysis: A detailed tutorial. *AI communications*, *30*(2), 169-190.

Thompson, J. L., Krovitz, G. E., y Nelson, A. J. (Eds.). (2003). *Patterns of growth and development in the genus Homo* (Vol. 37). Cambridge University Press.

Tirira, D. G. (2017). Guía de campo de los mamíferos del Ecuador. Segunda Edición Ediciones Murciélago Blanco. *Publicación especial sobre los mamíferos del Ecuador*, *11*.

Tirira, D. G. (2020). Mamíferos del Ecuador: lista actualizada de especies/Mammals of Ecuador: Updated checklist species. Versión 2020.1. Fundación Mamíferos y Conservación. Quito.

Velazco, P. M., y Patterson, B. D. (2014). Two new species of yellow-shouldered bats, genus Sturnira Gray, 1842 (Chiroptera, Phyllostomidae) from Costa Rica, Panama and western Ecuador. *ZooKeys*, (402), 43.

Velazco, S., Pacheco, V., y Meschede, A. (2011). First occurrence of the rare emballonurid bat Cyttarops alecto (Thomas, 1913) in Peru—Only hard to find or truly rare?. *Mammalian Biology*, *76*(3), 373-376.

Veselka, N., McErlain, D. D., Holdsworth, D. W., Eger, J. L., Chhem, R. K., Mason, M. J., Brain, K., Faure, P., y Fenton, M. B. (2010). A bony connection signals laryngeal echolocation in bats. *Nature*, *463*(7283), 939-942.

Wang, Q., Gao, Q., Gao, X., y Nie, F. (2017). Angle principal component analysis. IJCAI *International Joint Conference on Artificial Intelligence*.

Weiss, K. C., y Ray, C. A. (2019). Unifying functional trait approaches to understand the assemblage of ecological communities: synthesizing taxonomic divides. *Ecography*, *42*(12), 2012-2020.

Wilberg, E. W. (2015). What's in an outgroup? The impact of outgroup choice on the phylogenetic position of Thalattosuchia (Crocodylomorpha) and the origin of Crocodyliformes. *Systematic Biology*, *64*(4), 621-637.

Wilson, D. E., y LaVal, R. K. (1974). Myotis nigricans. *Mammalian species*, (39), 1-3.

Wilson, D., y Mittermeier, R. (2019). Handbook of the mammals of the world, Vol. 9: Bats. Lynx Edicions 9: 716-982.

Wold, S., Esbensen, K., y Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, *2*(1-3), 37-52.

Wu, H., Jiang, T., Huang, X., Lin, H., Wang, H., Wang, L., Hongxing, N., y Feng, J. (2014). A test of Rensch's rule in greater horseshoe bat (Rhinolophus ferrumequinum) with female-biased sexual size dimorphism. *PloS one*, *9*(1).

Xanthopoulos, P., Pardalos, P. M., y Trafalis, T. B. (2012). *Robust data mining*. Springer Science y Business Media.

Yuan, C., y Yang, H. (2019). Research on K-value selection method of K-means clustering algorithm. *J—Multidisciplinary Scientific Journal*, *2*(2), 226-235.

8. Anexos

Anexo 1. Información general de los ejemplares utilizados en los análisis morfométricos para esta investigación. (ND= no determinado)

Número de Museo	Colección	Género	Especie anterior	Especie Re-identificación	Sexo	País	Provincia	Localidad	Coordenadas
17240	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	ND	Ecuador	Esmeraldas	Reserva Manglares Cayapas Mataje	1.17305;-79.07937
17241	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Esmeraldas	Reserva Manglares Cayapas Mataje	1.17305;-79.07937
17242	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Esmeraldas	Reserva Manglares Cayapas Mataje	1.17305;-79.07937
17243	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Esmeraldas	Reserva Manglares Cayapas Mataje	1.17305;-79.07937
17244	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Esmeraldas	Reserva Manglares Cayapas Mataje	1.17305;-79.07937
17201	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17202	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17203	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17204	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17205	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17206	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17207	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17208	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17209	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17210	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17211	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17212	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17213	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17214	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17215	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17216	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106

17217	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17218	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17219	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17220	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17222	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	ND	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17223	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17224	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17226	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17229	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17230	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17233	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17234	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17235	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17236	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17237	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17239	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
9619	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*diminutus*	♂	Ecuador	Guayas	Bosque Protector Cerro Blanco	-2.17989;-80.0216
9636	QCAZ	*Myotis*		*diminutus*	♀	Ecuador	Guayas	Reserva Ecológica Manglares Churute	-2.42728;-79.588
9595	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*diminutus*	♂	Ecuador	Esmeraldas	Comuna San Francisco de Bogotá	109343;-787063
17340	QCAZ	*Myotis*	*sp.*	*diminutus*	♀	Ecuador	Imbabura	Río Verde	23593;-7886104
9155	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*diminutus*	♀	Ecuador	Esmeraldas	San Lorenzo, Finca La Guarapera	1.26921;-78.7955
528569	USNM	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♂	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
18761	LACM	*Myotis*	*diminutus*	*diminutus*	♀	Colombia	Nariño	La Guayacana	
269	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Bosque Protector La Perla	0.00417;-79.3867

270	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Bosque Protector La Perla	0.00417;-79.3867
6058	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Hacienda El Cortijo. Casa de hacienda	-19209;-7.91991
18176	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Cotopaxi	La Maná,	-0.835366667;-79.20793333
17221	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*riparius*	♂	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17195	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*riparius*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
17232	QCAZ	*Myotis*	*diminutus*	*riparius*	♀	Ecuador	Los Ríos	Centro Científico Río Palenque	-0.58884;-79.36106
9176	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Esmeraldas	San Lorenzo, Estación La Chiquita	1.23333;-78.76
17313	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Esmeraldas	Playa de Oro. Culo de Negra	0.87120;-78.79252
9175	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Guayas	Cerro Blanco	ND
9178	QCAZ	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♂	Ecuador	Esmeraldas	San Lorenzo	ND
10579	QCAZ	*Myotis*	*riparius cf.*	*riparius*	♂	Ecuador	Imbabura	Santa Rosa	ND
513482	USNM	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♂	Ecuador	Los Ríos	Vinces, 3 km NE, Puerto Nuevo	ND
522575	USNM	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Los Ríos	Hacienda Santa Teresita	ND
112857	CM	*Myotis*	*riparius*	*riparius*	♀	Ecuador	Esmeraldas		ND
85344	TTU	*Myotis*	*riparius (sp.)*	*riparius*	ND	Ecuador	Esmeraldas		ND
85345	TTU	*Myotis*	*riparius (sp.)*	*riparius*	ND	Ecuador	Esmeraldas		ND
2373	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*riparius*	♂	Ecuador	Esmeraldas	Estación La Chiquita	1.23333;-78.76
3749	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*riparius*	♀	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Reserva Ecológica Río Guajalito	-0.23139;-78.8028
3617	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♂	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Río Guajalito	-0.23139;-78.8028

3663	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♂	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Río Guajalito	-0.23139;-78.8028
17248	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♂	Ecuador	Cotopaxi	Otonga	-0.41937;-79.00319
17251	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♀	Ecuador	Cotopaxi	Otonga	-0.41937;-79.00319
17252	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♀	Ecuador	Cotopaxi	Otonga	-0.41937;-79.00319
17285	QCAZ	*Myotis*	*oxyotus*	*oxyotus*	♀	Ecuador	Cotopaxi	Otonga	-0.41937;-79.00319
13097	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*oxyotus*	♀	Ecuador	Cotopaxi	Reserva Integral Otonga	-0.4189;-79.0039
267	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*albescens*	♂	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Bosque Protector La Perla	0.00417;-79.3867
10580	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*albescens*	ND	Ecuador	Imbabura	Comunidad Santa Rosa	0.292494;-78.9606
10581	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*albescens*	ND	Ecuador	Imbabura	Comunidad Santa Rosa	0.292494;-78.9606
10582	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*albescens*	ND	Ecuador	Imbabura	Comunidad Santa Rosa	0.292494;-78.9606
10583	QCAZ	*Myotis*	*albescens*	*albescens*	ND	Ecuador	Imbabura	Comunidad Santa Rosa	0.292494;-78.9606
1622	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Tinalandia	-0.305833;-79.0492
1623	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Tinalandia	-0.305833;-79.0492
1624	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Tinalandia	-0.305833;-79.0492
1626	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Tinalandia	-0.305833;-79.0492
6485	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Río Tandayapa. Valle de Tandayapa	0.00594;-78.6745
6486	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Pichincha	Río Tandayapa. Valle de Tandayapa	0.00594;-78.6745
9601	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Esmeraldas	Comuna San Francisco de Bogota	1.09343;-78.7063
10591	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♂	Ecuador	Imbabura	9.5 km ENE de Comunidad Santa Rosa	0.330833;-78.9319
17828	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	♀	Ecuador	Manabí	Reserva Ayampe	-1.675666667;-80.7895
13169	QCAZ	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Santo Domingo de los Tsáchilas	Estación Científica Río Guajalito	-0.23139;-78.8028

33239	AMNH	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	ND	ND
36263	AMNH	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Guayas	ND	ND
113343	USNM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	San Javier	ND
113345	USNM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	Malimpia - Pambilar	ND
113346	USNM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	Malimpia - Pambilar	ND
113349	USNM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Imbabura	Paramba	ND
112854	CM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	ND	ND
102883	TTU	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	ND	ND
8448	LACM	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Guayas	Isla de Silva	ND
53427	FMNH	*Myotis*	*nigricans*	*nigricans*	ND	Ecuador	Esmeraldas	Cachavi	ND

Anexo 2. Información molecular de los ejemplares incluidos en la filogenia en base al gen Citocromo b.

Especie	GenBank	Voucher	Localidad	Recurso
M. albescens	JX 130463	TTU 85088	Pastaza, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130464	TTU 85089	Pastaza, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130465	TTU 85094	Pastaza, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130472	TTU 102363	El Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130500	TTU 102348	El Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130501	TTU 103744	Guayas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130445	TTU 46343	Huánuco, Peru	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	AF376839	FMNH 162543	Tarija, Bolivia	Ruedi and Mayer (2001)
M. albescens	JX 130503	TTU 99124	Boquerón, Paraguay	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130502	TTU 99801	Ñeembucú, Paraguay	Larsen et al. (2012b)
M. albescens	JX 130504	TTU 99818	Ñeembucú, Paraguay	Larsen et al. (2012b)
M. atacamensis	AM261882	MVZ 168933	Perú	Ruedi and Mayer (2001)
M. attenboroughi	JN020573	UNSM 29470	St. George Parish, Tobago	Larsen et al. (2012b)
M. austroriparius	AM261885		Tennessee, United States	Stadelmann et al. (2007)
M. chiloensis	AM261888		Santiago, Chile	Stadelmann et al. (2007)
M. clydejonesi	JX 130520	TTU 66489	Sipaliwini, Suriname	Larsen et al. (2012b)
M. dinelli	JX 130475	TTU 66489	Córdova, Argentina	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130467	TTU 85410	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130466	TTU 85348	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130578	TTU 103671	Guayas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130541	TTU 103571	Guayas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130448	TTU 102833	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130447	TTU 103805	Loja, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130512	TK 151860	Loja, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130581	TTU 102775	Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX130571	TTU 102811	Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. diminutus	JX 130523	TTU 103803	El Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012a)
M. diminutus	JX 130541	TTU 103751	El, Oro Ecuador	Larsen et al. (2012a)
M. diminutus	JX 130546	TTU 102760	El Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012a)
M. diminutus	JX 130547	TTU 102765	El Oro, Ecuador	Larsen et al. (2012a)
M. diminutus	Pendiente	QCAZ 9619	Guayas, Ecuador	Este estudio
M. diminutus		QCAZ 9636	Guayas, Ecuador	En este estudio
M diminutus		QCAZ 9595	Esmeraldas, Ecuador	En este estudio
M. diminutus		QCAZ 17244	Esmeraldas, Ecuador	En este estudio
M. diminutus		QCAZ 17340	Imbabura, Ecuador	En este estudio
M. diminutus (*sensu stricto*)		QCAZ 17200	Los Ríos, Ecuador	En este estudio
M. dominicensis	AF376848			Ruedi and Mayer (2001)
M. dominicensis	JN020554	TTU 31519	St. Joseph's Parish, Dominica	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JN020569	TTU 48161	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JX 130529	TTU 48162	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JX 130530	TTU 48163	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JX 130531	TTU 48164	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M.handleyi	JX 130532	TTU 48168	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JX 130533	CM 78645	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. handleyi	JX 130535	TTU 48169	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)

M. handleyi	JX 130543	TTU 48169	Guárico, Venezuela	Larsen et al. (2012a)
M. cf. lavali	AF376853	MVZ AD50	São Paulo, Brazil	Ruedi and Mayer (2001)
M. levis	AF376853	FMNH 141600	São Paulo, Brazil	Larsen et al. (2012b)
M. martiniquensis	AM 262332		Martinique	Larsen et al. (2012b)
M martiniquensis	JN020558	MNHN: 2005-896	Morne-Rouge, Martinique	Larsen et al. (2012a)
M martiniquensis	JN020557	MNHN: 2005-895	Grand' Rivière, Martinique	Larsen et al. (2012a)
M martiniquensis	JN020559		Grand' Rivière, Martinique	Larsen et al. (2012a)
M. martiniquensis	JN020560	MNHN:2008 -974	Grand' Rivière, Martinique	Larsen et al. (2012a)
M. martiniquensis	JN020561		Grand' Rivière, Martinique	Larsen et al. (2012a)
M. nesopolus	JN20575		Bonaire, Netherlands Antilles	Larsen et al. (2012a)
M. nesopolus	JN20576		Bonaire, Netherlands Antilles	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JX 130455	TTU 95992	San Pedro, Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JX 130496	TTU 99743	Presidente Hayes, Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M nigricans	JX 130498	TTU 99046	Alto Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JX 130499	TTU 99802	Ñeembucú, Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JX 130539	TTU 99516	Concepción Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JX 130540	TTU 99151	Boquerón Paraguay	Larsen et al. (2012a)
M. nigricans	JN020570	CM 63933	Nickerie, Suriname	Larsen et al. (2012a)
M. cf. nigricans	JN020571	CM 69053	Para, Suriname	Larsen et al. (2012a)
M. cf. nigricans	JN020572	CM 77699	Para, Suriname	Larsen et al. (2012a)
M. cf. nigricans	JX 130452	TTU 46347	Huánuco, Peru	Larsen et al. (2012a)
M. cf.nigricans	JX 130537	TTU 46344	Huánuco, Peru	Larsen et al. (2012a)
M. cf.nigricans	JX 130538	TTU 46346	Huánuco, Peru	Larsen et al. (2012a)
M. nyctor	JN020562	CM 83427	St. David Parish, Grenada	Larsen et al. (2012a)
M. nyctor	JN020563	TTU 109225	St. Thomas Parish, Barbados	Larsen et al. (2012a)
M. nyctor	JN020565	TTU 109229	St. Thomas Parish, Barbados	Larsen et al. (2012a)
M. nyctor	JN020567	TTU 109230	St. Thomas Parish, Barbados	Larsen et al. (2012a)
M. cf. pilosatibialis	JX130526	TTU 35360	San Luis Potosi, Mexico	Larsen et al. (2012b)
M. cf. pilosatibialis	JX130449	TTU 47514	Yucatán, Mexico	Larsen et al. (2012b)
M. cf. pilosatibialis	JX130525		Yucatán, Mexico	Larsen et al. (2012b)
M. cf. pilosatibialis	AF376852		Yucatán, Mexico	Ruedi and Mayer (2001)
M. cf. pilosatibialis	JX130489	CM 55764	Vera Cruz, Mexico	Larsen et al. (2012b)
M. cf. pilosatibialis	JX130514	TTU 85060	Tungurahua, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. cf. pilosatibialis	JX130519	TTU 60891	Santa Ana, El Salvador	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130479	TTU 84380	Atlántida, Honduras	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130480	TTU 84138	Atlántida, Honduras	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	AM261891		La Selva, Costa Rica	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130474	CM 78659	Bolivar, Venezuela	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130473	CM 68443	Para, Suriname	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130469	TTU 85344	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M .riparius	JX130515	TTU 85345	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130492	TTU 102883	Esmeraldas, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130513	TTU 84870	Pastaza, Ecuador	Larsen et al. (2012b)

M. riparius	JX130506	TTU 85090	Pastaza, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130516	QCAZ 11380	Chimborazo, Ecuador	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130436		Huánuco, Perú	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130481	TTU 46348	Huánuco, Perú	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	AF376866	MVZ AD119*	Pernambuco, Brazil	Ruedi and Mayer (2001)
M. riparius	AF376867	MVZ AD472*	São Paulo, Brazil	Ruedi and Mayer (2001)
M. riparius	AM262336		São Paulo, Brazil	Stadelmann et al. (2007)
M. riparius	JX130485	TTU 99645	Paraguarí, Paraguarí	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130486	TTU 94912	Canindeyú, Paraguarí	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130488		Canindeyú, Paraguarí	Larsen et al. (2012b)
M. riparius	JX130491	TTU99378	Canindeyú, Paraguarí	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	EF222340		Texas, United States	Unpublished
M. velifer	EU680298		Texas, United States	Unpublished
M. velifer	EU680299		Texas, United States	Unpublished
M. velifer	JX130468	TTU 109261	Texas, United States	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	AF376870	MVZ 146766	Sonora, México	Ruedi and Mayer (2001)
M. velifer	JX130478	TTU 44816	Tamaulipas, México	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	JX130438	UAMI 15306	Michoacán México	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	JX130462	UAMI 15304	Michoacán México	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	JX130589	UAMI 15305	Michoacán México	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	JX130592		Michoacán México	Larsen et al. (2012b)
M. velifer	JX130477	TTU 6098	Santa Ana, El Salvador	Larsen et al. (2012b)
M. vivesi	AJ504406		Gulf of California, México	Stadelmann et al. (2004)
M. vivesi	AJ504407		Gulf of California, México	Stadelmann et al. (2004)
M. yumanensis	AF376875	MVZ 15585	California, United States	Ruedi and Mayer (2001)
Myotis sp.	JX 130493	TTU 61228	Valle, Honduras	Larsen et al. (2012b)
M. brandtii	AF376844		Neuhaus, Germany	Ruedi and Mayer (2001)
M. brandtii	AM261886	NMP PB 916	North west, Russia	Stadelmann et al. (2007)
M. brandtii	AB106609		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243026		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243026		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243027		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243028		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243029		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)
M. gracilis	AB243030		Hokkaido, Japan	Kawai et al. (2003)

Anexo 3. Medidas craneales, descripción gráfica y abraviaturas. Medidas morfométricas tomadas con base en Moratelli y Wilson, 2011. (1) Vista dorsal del cráneo. (2) Vista ventral del cráneo. (3) Vista lateral del cráneo. (4) Mandíbula, vista lateral.

