



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

REVISIÓN DE LA SISTEMÁTICA MOLECULAR Y  
VARIACIÓN DE LA MORFOLOGÍA CRANEAL DE  
*Peromyscus mexicanus* (RODENTIA: CRICETIDAE) DE  
ALTA MONTAÑA EN EL SUR DE MÉXICO.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación en Ecología de Zonas Áridas )

P r e s e n t a

**Luis Ernesto Pérez Montes**

La Paz, Baja California Sur, mayo de 2020.

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 30 del Mes de abril del 2020, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**" REVISIÓN DE LA SISTEMÁTICA MOLECULAR Y VARIACIÓN DE LA MORFOLOGÍA CRANEAL DE *Peromyscus mexicanus* (RODENTIA: CRICETIDAE) DE ALTA MONTAÑA EN EL SUR DE MÉXICO"**

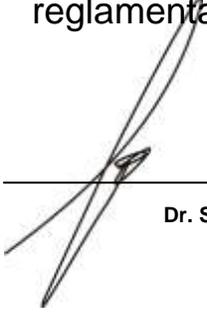
Presentada por el alumno:

**Luis Ernesto Pérez Montes**

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Ecología de Zonas Áridas**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



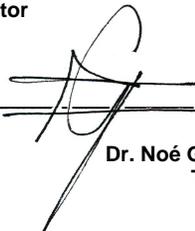
---

Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda  
Co-Director



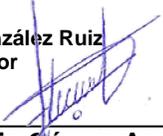
---

Dr. Miguel Ángel Briones Salas  
Co-Director



---

Dr. Noé González Ruiz  
Tutor



---

**Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,**  
Directora de Estudios de Posgrado y  
Formación de Recursos Humanos.

## **Conformación de Comité**

### **Comité Tutorial**

Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Director de Tesis

Dr. Miguel Ángel Briones Salas  
Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad  
Oaxaca  
Co-Director de Tesis

Dr. Noé González Ruiz  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa  
Co-Tutor

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda  
Dr. Miguel Ángel Briones Salas  
Dr. Noé González Ruiz

### **Jurado de Examen**

Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda  
Dr. Miguel Ángel Briones Salas  
Dr. Noé González Ruiz

### **Suplente**

Dr. Gustavo Alberto Arnaud Franco

## Resumen

Las regiones montañosas de Oaxaca son un área que albergan una alta diversidad de especies y con un elevado grado de endemismos, debido a su compleja diversidad ambiental y climática. Un ejemplo de esto son los pequeños mamíferos, que por su vagilidad limitada, son excelentes modelos para estudiar la diversificación de especies. *Peromyscus mexicanus* es un cricétido que se distribuye desde San Luis Potosí a lo largo de la vertiente del Golfo de México hasta la Sierra Madre del Sur en Oaxaca. Estudios recientes han demostrado que *P. mexicanus* es un grupo polifilético de especies y con al menos 15 linajes mitocondriales en Mesoamérica. La morfometría craneal tiene concordancia con los datos moleculares. Sin embargo, existe escasa información sobre las poblaciones de *P. mexicanus* en Oaxaca, por lo que este estudio complementa la información sobre la sistemática molecular y morfológica de esta especie. Se realizó la extracción de ADN mitocondrial y se amplificó el gen *Cytb* (~800 pb) para realizar aproximaciones filogenéticas (Verosimilitud e Inferencia Bayesiana) análisis de distancias genéticas de 22 ejemplares de la Sierra Madre de Oaxaca (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS) albergados en la colección de mamíferos del CIBNOR. Se incluyeron tres secuencias de cada una de las especies del grupo *mexicanus* descargadas de GenBank, con el fin de determinar la posición filogenética de las poblaciones de la SMO y SMS. Los análisis morfológicos se realizaron con 38 ejemplares de la colección mamíferos y 19 medidas craneales. Se realizó un Análisis de Varianzas (ANOVA) de una vía y un Análisis de Componentes Principales (ACP) con el fin de evaluar si existen diferencias entre los *P. mexicanus* de la SMO, la SMS y Veracruz. Las aproximaciones filogenéticas infieren que las poblaciones de la SMO y SMS forman dos clados distintos al resto del grupo *mexicanus*. *P. gymnotis* es el clado más cercano a los linajes de SMO y SMS. Los valores de distancias genéticas están entre 6.16 – 8.73%, lo que sugiere su validez como especies. Los resultados del ANOVA muestran que el escudo bular (SBD) tiene diferencias significativas (valor  $t = 2.44$ , g.l. = 36, valor  $p = 0.02$ ). El ACP agrupa a los *Peromyscus* de la SMO fuera de los de la SMS y los de Los Tuxtlas, los tres primeros componentes principales explican el 63.9% de la variabilidad de las medidas. Las variables que presentan un mayor grado de correlación con el CP1 es el ancho del rostro (BRR) con un valor propio de 0.35, seguido por la anchura del arco cigomático (ZYB = 0.32) y la anchura de los nasales (NAB = 0.31). Los resultados sugieren que los *Peromyscus* de la SMO y SMS pueden ser especies válidas que requieren un análisis más profundo para determinar su posición taxonómica.

**Palabras Claves:** ADN mitocondrial, diversidad molecular, filogeografía, Mesoamérica, Oaxaca, regiones montañosas.



---

Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda  
Co-Director de Tesis

Vo. Bo.



---

Dr. Miguel Ángel Briones Salas  
Co-Director de Tesis

## Summary

The mountainous regions of Oaxaca have a high diversity of species and high degree of endemism, which can be explained by its diverse environmental and climatic diversity. An example of this, are the small mammals, which due to their limited vagility, are excellent models for studying the diversification of species. *Peromyscus mexicanus* is a cricetid, which range from San Luis Potosí southward along the Gulf of Mexico slopes to the Sierra Madre del Sur in Oaxaca. Recent studies have shown that *P. mexicanus* is a polyphyletic group of species and have at least 15 mitochondrial lineages in Mesoamerica. In addition, the skull morphometry analyses are correlated to molecular data. However, there is little information on the populations of *P. mexicanus* in Oaxaca. This study complements the molecular and morphological systematic information of this species. Mitochondrial DNA was extracted and the *Cytb* gene was amplified (~800 bp) to perform phylogenetic approximations (Likelihood and Bayesian Inference). Genetic distance analysis of 22 specimens from Sierra Madre de Oaxaca (SMO) and Sierra Madre del Sur (SMS), hosted in CIBNOR mammal collection was performed. Three sequences of each species of the *Mexicanus* group were downloaded from GenBank to determine the phylogenetic position of *P. mexicanus* populations from SMO and SMS. Morphological analyses were performed on 38 specimens for 19 cranial measurements. An Analysis of Variance (ANOVA) of one way and a Principal Component Analysis (PCA) were carried out in order to evaluate if there are statistical differences between population of the SMO, SMS, and Veracruz. Phylogenetic approaches shows that the SMO and SMS populations are in a different clades from the rest of the *mexicanus* group, *P. gymnotis* is the most closest clade to the SMO and SMS lineages. Genetic distances are between 6.16 - 8.73%, which suggests its full species. The ANOVA results show that the shield-bullae depth (SBD) has significant differences (t-value = 2.44, d.f. = 36, p-value = 0.02). The PCA groups the SMO *Peromyscus* outside the SMS and Los Tuxtlas, the first three Principal Components explaining 63.9% of the data variability. The variables with the highest degree of correlation with PC1 are: rostral breadth (BRR) with a proper value of 0.35, followed by zygomatic breadth (ZYB = 0.32) and nasal breadth (NAB = 0.31). The results suggest that SMO and SMS *Peromyscus* could be valid species that require further analysis to determine their taxonomic position.

**Keywords:** Mesoamerica, mitochondrial DNA, molecular diversity, mountain regions, phylogeography, Oaxaca.

Vo. Bo.




---

Dr. Sergio Ticul Alvarez Castañeda  
Co-Director de Tesis




---

Dr. Miguel Angel Briones Salas  
Co-Director de Tesis

**Dedicatoria**

*A mi padre, porque a pesar de todo,  
siempre está para darme consejos  
en los momentos que más lo necesito.*

*A mis hermanos que son mi ejemplo en distintos aspectos.*

*A mi madre, sé que está muy orgullosa.*

## Agradecimientos

En primera instancia quiero agradecer a mi director de tesis, el Dr. Sergio Ticul Álvarez Castañeda, por transmitirme su pasión por el estudio de los mamíferos, por su paciencia y por haberme guiado en la redacción de esta tesis.

Al Dr. Miguel Ángel Briones Salas por sus acertados comentarios para mejorar la calidad de la tesis, por haber apoyado en la logística durante las salidas a campo y por siempre estar para aclarar dudas.

Al Dr. Noé González Ruiz por revisar y proponer correcciones al trabajo escrito además por clarificar mis dudas respecto a la identificación en laboratorio de los *Peromyscus*.

Al técnico responsable del laboratorio de mamíferos del CIBNOR, Mayra de La Paz Cuevas, por proporcionarme el material para lograr el trabajo en el laboratorio.

A la técnico Carmen Izmene Gutiérrez Rojas por su apoyo en el laboratorio y por la limpieza y catalogación del material biológico depositado en la colección de mamíferos del CIBNOR.

Al M. en C. Mario Arce-Montoya, Técnico Titular “E” del Laboratorio de Biotecnología Vegetal y responsable técnico del Laboratorio de Bioseguridad para el Manejo de Organismos Genéticamente Modificados, por sus instrucciones y apoyo en el uso del NanoDrop.

A Horacio Sandoval Gómez, por todo su apoyo en el laboratorio de cómputo y edificio anexo de posgrado.

A Tania Nuñez Valdez, por todo su apoyo y orientación en los tramites del área de posgrado.

A Issac Camargo por los comentarios y orientación en el análisis de los datos de esta tesis.

A Leticia Cab Sulub y Gabriela Gamboa por el apoyo en la elaboración de la cartografía de esta tesis.

A Lilia López por el apoyo en campo para la obtención de las muestras.

A Abraham Carranza, Adriana Miranda y Teresa Hernández por la compañía y apoyo en campo, por los buenos momentos en esas noches de muestreo.

A mis amigos de generación, por ser una familia en La Paz.

A Kathleen Galindo, por su apoyo y motivación en todo.

Al CONACyT por la beca de manutención otorgada número 634990.

A todo el personal del CIBNOR por el apoyo en trámites y orientación para uso de las instalaciones.

## Contenido

<b>Resumen</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Agradecimientos</b> .....	iv
<b>Contenido</b> .....	v
<b>Lista de figuras</b> .....	vi
<b>Lista de tablas</b> .....	viii
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	7
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	10
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	11
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	12
5.1 Objetivo general.....	12
5.2 Objetivos particulares .....	12
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
6.1 Área de estudio .....	13
6.2 Vegetación .....	14
6.3 Clima.....	15
6.4 Recolecta de ejemplares.....	15
6.5 Análisis moleculares .....	17
6.6 Diversidad genética.....	18
6.7 Análisis filogenéticos.....	18
6.8 Análisis morfológicos .....	19
<b>7. RESULTADOS</b> .....	25
7.1 Ejemplares analizados.....	25
7.2 Diversidad Genética.....	26
7.3 Análisis Filogenéticos.....	26
7.4 Comparaciones morfológicas.....	33
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	41
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	44
<b>10. LITERATURA CITADA</b> .....	45
<b>11. ANEXOS</b> .....	53

## Lista de figuras

- Figura 1.** Subprovincias fisiográficas de Oaxaca: DB = Depresión del Balsas, DIT = Depresión Istmica de Tehuantepec, FT = Fosa de Tehuacán, MVC = Montañas y Valles del Centro, MVO = Montañas y Valles del Occidente, PCG = Planicie Costera del Golfo, PCT = Planicie Costera de Tehuantepec, SMO = Sierra Madre de Oaxaca, SMS = Sierra Madre del Sur, SMSOC = Sierra Madre del Sur de Oaxaca y Chiapas y VC = Valles Centrales. Áreas Naturales para la Consevación: ANP = Área Natural Protegida, UMA = Unidad de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre, ADVC = Área Destinada Voluntariamente para la Conservación y PSA = Pago por Servicios Ambientales. Tomado de Briones-Salas *et al.* (2016). ..... 3
- Figura 2.** Ilustración de *Peromyscus mexicanus*. Tomado de: Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda (2010). ..... 4
- Figura 3.** Distribución de *Peromyscus mexicanus* después de la revisión de Carleton 1989: 1) *P. m. angelensis*; 2) *P. m. azulensis*; 3) *P. m. mexicanus*; 4) *P. m. putlaensis*; 5) *P. m. saxatalis*; 6) *P. m. teapensis* y 7) *P. m. totontepecus*. Tomado de: Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda (2010). ..... 5
- Figura 4.** Localidades donde se realizó la recolecta de los ejemplares de *Peromyscus* sp. Las subprovincias fisiográficas son las siguientes: 1) Depresión del Balsas; 2) Montañas y Valles del Occidente de Oaxaca; 3) Fosa de Tehuacán; 4) Sierra Madre de Oaxaca; 5) Planicie Costera del Golfo; 6) Valles Centrales de Oaxaca; 7) Montañas y Valles del Centro; 8) Depresión Istmica de Tehuantepec; 9) Sierra Madre del Sur de Oaxaca y Chiapas; 10) Sierra Madre del Sur, 11) Planicie Costera del Pacífico y 12) Planicie Costera de Tehuantepec. . 16
- Figura 5.** Medidas externas utilizadas para el registro y análisis morfológico. Modificado de Godínez y Guerrero (2014)..... 20
- Figura 6.** Medidas craneales utilizadas en el análisis morfológico. Se muestran las 19 medidas del cráneo. Modificado de Ávila-Valle *et al.* (2012). ..... 22
- Figura 7.** Clases de edades de los *Peromyscus* analizados. Los números son las clases de edades; M1 = Primer molar, M2 = Segundo molar y M3 = Tercer molar. .... 23
- Figura 8.** Distribución geográfica de *Peromyscus mexicanus* (líneas verdes); *P. guatemalensis* (líneas negras punteadas); *P. gymnotis* (líneas rojas); *P. zarhynchus* (líneas blancas). Los datos para la elaboración de los polígonos fueron tomados de IUCN (2019), versión en línea. .... 25
- Figura 9.** Dendrograma obtenido a partir del análisis de Máxima Verosimilitud de las secuencias de *Cytb* de los *Peromyscus* de la Sierra Madre de Oaxaca y Sierra Madre del Sur. Se incluyen especies del grupo *mexicanus* y se utilizaron como grupo externo a *Habromys lophurus*, *P. mayensis*, *P. stirtoni*, *P. megalops*, *P. furvus* y *Reithrodontomys sumichrasti*. Se muestran los valores de Bootstrap. .... 28
- Figura 10.** Dendrograma obtenido a partir del análisis de Inferencia Bayesiana de las secuencias de *Cytb* de los *Peromyscus* de la Sierra Madre de Oaxaca y Sierra Madre del Sur. Se incluyen especies del grupo *mexicanus* y se utilizaron como grupo externo a *Habromys lophurus*, *P. mayensis*, *P. stirtoni*, *P. megalops*, *P. furvus* y *Reithrodontomys sumichrasti*. ..... 29

- Figura 11.** Vista dorsal, ventral y lateral de los cráneos de *Peromyscus* sp. de la SMO (A = La Esperanza Comaltepec), SMS (B = San Francisco Huamelula; C = San Felipe Lachilló; D = San José de las Flores) y *Peromyscus mexicanus* (D = Los Tuxtlas, Veracruz). ..... 34
- Figura 12.** Gráfico de influencias obtenido del análisis de componentes principales de las 19 variables craneodentales. Se analizaron tres grupos de individuos de *Peromyscus mexicanus* de distintas regiones geográficas. Las variables con mayor correlación son BRR, ZYB y NAB. .... 39
- Figura 13.** Gráfico de puntuaciones obtenido del análisis de componentes principales de 19 medidas craneodentales. Se analizaron tres grupos de individuos de *Peromyscus mexicanus* de distintas regiones geográficas. Los cuadros son individuos de Los Tuxtlas, Veracruz. Los círculos son individuos de La Esperanza, Comaltepec, en las Sierra Madre de Oaxaca. Los triángulos son individuos de tres localidades de la Sierra Madre del Sur, Oaxaca. .... 40
- Figura 14.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en La Esperanza, Comaltepec, 10 km S, 5 km W de Valle Nacional, Oaxaca, 1569 msnm. .... 57
- Figura 15.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.62 km NE de San José de las Flores, Oaxaca, 616 msnm. .... 57
- Figura 16.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.5 km W de San Felipe Lachilló, Oaxaca, 897 msnm. .... 58
- Figura 17.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.5 km N, 0.5 km E de San Francisco Huamelula, Oaxaca, 352 msnm. .... 58

## Lista de tablas

- Tabla I.** Matriz de las distancias- $p$  expresadas en porcentaje entre las especies del grupo *Peromyscus*. Los valores están separados por diagonal de la siguiente manera: mínimo/promedio/máximo. Los valores de error estándar se muestran en la matriz superior. .... 30
- Tabla II.** Porcentaje de diferenciación genética (distancia- $p$ ) dentro de las especies del grupo *mexicanus* y dentro de las poblaciones de la Sierra Madre de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur. Se muestran los valores de Error Estandar ( $SE$ ). La tasa de variación se modeló con una distribución gamma ..... 32
- Tabla III.** Medias aritméticas de cuatro medidas externas y 19 medidas craneales de cada grupo de *P. mexicanus* de las Sierras de Oaxaca y Veracruz: (SMO) Sierra Madre de Oaxaca, W La Esperanza Comaltepec ( $n = 19$ ); (SMS) Sierra Madre del Sur, tres localidades diferentes, 0.62 km NE, San José de las Flores ( $n = 3$ ), 0.5 km W, San Felipe Lachilló ( $n = 2$ ) y 0.5 km N, San Francisco Huamelula ( $n = 7$ ); Estación de Biología Tropical los Tuxtles, Veracruz ( $n = 7$ ). Los valores de  $F$  y los niveles de significancia se obtuvieron mediante el ANOVA de una vía. Las abreviaturas de las medidas se mencionan en el texto; los datos son las medias  $\pm$  la desviación estándar. .... 35
- Tabla IV.** Coeficientes de puntuación estandarizados de tres grupos de *Peromyscus mexicanus*, se muestran los eigenvalores, los porcentajes de varianza y porcentaje acumulado..... 36
- Tabla V.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales sobre la transformación logarítmica de las variables craneodentales de tres poblaciones de *Peromyscus mexicanus* de Los Tuxtles, Veracruz ( $n = 7$ ), Sierra Madre de Oaxaca ( $n = 19$ ) y Sierra Madre del Sur ( $n = 12$ ) en Oaxaca. Los valores propios con mayor correlación se resaltan en negritas. .... 38

## 1. INTRODUCCIÓN

La separación geográfica puede promover que en cada montaña existan características ambientales distintas con una influencia sobre la diversidad que albergan (Hedin *et al.*, 2015) y la interrupción del flujo genético entre ellas favoreciendo la especiación (Rovito, 2010). Debido al aislamiento geográfico, en las regiones montañosas suceden procesos evolutivos similares a islas, estos sitios son considerados como “hotspots” por su alta riqueza de especies, funcionando como refugio ante los cambios climáticos (Myers *et al.*, 2000). Las regiones montañosas presentan una separación física que provoca una fragmentación natural del ambiente, por lo que las partes altas de las montañas reciben el nombre de islas de cielo o islas serranas (sky island en inglés, McCormack *et al.*, 2009).

Algunos factores geográficos (e. g., ciclos glaciales, distintos intervalos de elevación en las cadenas montañosas, fluctuaciones en el nivel del mar) y biológicos (e. g., ciclos de vida, reproducción, etc.) de las especies han permitido la dispersión y su diversificación en las montañas (Bedford y Hoekstra, 2015). En Norte América se presentó la última baja de temperatura durante el Último Máximo Glacial (UMG) hace aproximadamente 18,000 años; sin embargo, durante los periodos interglaciares en Mesoamérica no existieron áreas cubiertas por hielos que funcionaron como refugios pleistocénicos para la fauna (Graham, 1986).

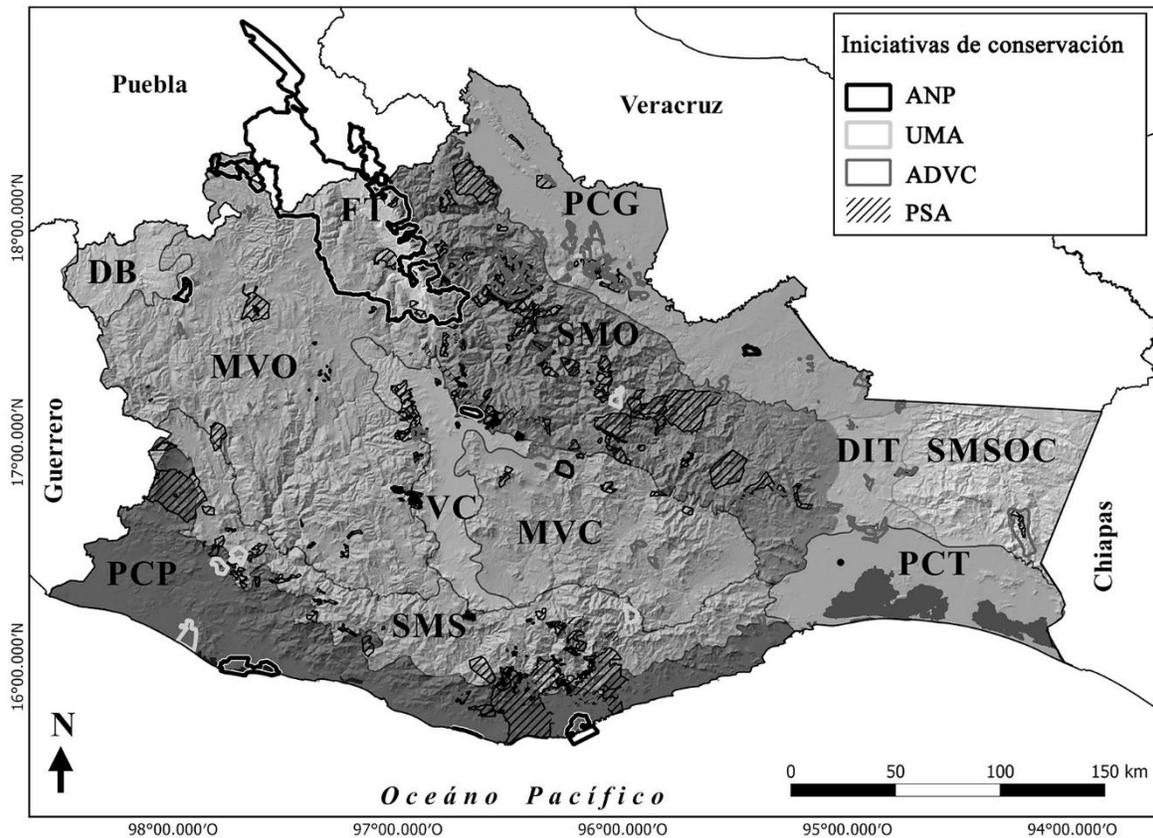
Los registros fósiles que se tienen de Norte América muestran evidencia de cambios en las áreas de distribución de los mamíferos durante distintos tiempos geológicos; los desplazamientos son en distintas direcciones y ritmos en respuesta a las fluctuaciones climáticas durante el cuaternario tardío (Graham *et al.*, 1996). Los patrones geográficos de las provincias faunísticas durante el pleistoceno tardío y holoceno fueron similares, sin embargo, las diferencias en los gradientes ambientales dieron como resultado disimilitudes en la composición de las especies (Graham *et al.*, 1996). Los patrones de distribución actual de los mamíferos emergieron durante los últimos miles de años por lo que la mayoría de las comunidades del pleistoceno tardío no tienen análogos modernos (Graham *et al.*, 1996).

Un factor determinante en el flujo genético, además de las barreras geográficas, es la fragmentación ambiental. La fragmentación del hábitat puede tener efectos negativos, sobre todo en especies con capacidad de dispersión limitada, produciendo una reducción en la

diversidad genética (Dixo *et al.*, 2009). En las regiones montañosas de Oaxaca la modificación que crea discontinuidad en los ambientes es cada vez mayor y en organismos con desplazamiento reducido puede producir aislamiento reproductivo dando como resultado diferenciación genética (Bryson *et al.*, 2010). Es muy probable que al realizar mayores estudios en la diversidad genética de los distintos grupos de vertebrados se conozca la diversidad real que albergan las regiones montañosas de Oaxaca (Bryson *et al.*, 2010).

El estado de Oaxaca está formado por 12 subprovincias fisiográficas con características físicas, climáticas y geológicas exclusivas (Ortiz-Pérez *et al.*, 2004). La Sierra Madre de Oaxaca (SMO), ubicada en el norte de Oaxaca, y la Sierra Madre del Sur (SMS), al sur, tienen altitudes superiores a los 1,500 msnm y son dominadas por bosques templados de pino, encino, pino-encino y bosque mesófilo de montaña (Ortiz-Pérez *et al.*, 2004). En el estado existen 880 áreas naturales para la conservación de los recursos naturales lo que representa el 12.02% del territorio estatal. De las subprovincias fisiográficas de Oaxaca, la SMO cuenta con la mayor diversidad de mamíferos, seguida de la PCT y la SMS (Briones-Salas *et al.*, 2016; Figura 1).

Un modelo excelente para entender y evaluar cuál es el efecto del aislamiento en las regiones montañosas son los mamíferos pequeños, particularmente los ratones del género *Peromyscus*, las especies de este género presentan requerimientos ambientales y ecológicos específicos que aunados a su reducida capacidad de desplazamiento, permite ser susceptibles a tener cambios en la diversidad genética entre sus poblaciones (Bedford y Hoekstra, 2015). El género *Peromyscus* incluye 57 especies reconocidas (Musser y Carleton, 2005; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017), que se distribuyen en casi todos los ambientes terrestres de Norte América, desde las zonas áridas hasta los bosques templados y húmedos (Sullivan *et al.*, 1997; Tiemann-Boege *et al.*, 2000). El intervalo altitudinal registrado para las especies es desde el nivel del mar hasta 4,300 msnm (Bedford y Hoekstra, 2015).



**Figura 1.** Subprovincias fisiográficas de Oaxaca: DB = Depresión del Balsas, DIT = Depresión Istmica de Tehuantepec, FT = Fosa de Tehuacán, MVC = Montañas y Valles del Centro, MVO = Montañas y Valles del Occidente, PCG = Planicie Costera del Golfo, PCT = Planicie Costera de Tehuantepec, SMO = Sierra Madre de Oaxaca, SMS = Sierra Madre del Sur, SMSOC = Sierra Madre del Sur de Oaxaca y Chiapas y VC = Valles Centrales. Áreas Naturales para la Conservación: ANP = Área Natural Protegida, UMA = Unidad de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre, ADVC = Área Destinada Voluntariamente para la Conservación y PSA = Pago por Servicios Ambientales. Tomado de Briones-Salas *et al.* (2016).

Un modelo excelente para entender y evaluar cuál es el efecto del aislamiento en las regiones montañosas son los mamíferos pequeños, particularmente los ratones del género *Peromyscus*, las especies de este género presentan requerimientos ambientales y ecológicos específicos que aunados a su reducida capacidad de desplazamiento, permite ser susceptibles a tener cambios en la diversidad genética entre sus poblaciones (Bedford y Hoekstra, 2015). El género *Peromyscus* incluye 59 especies reconocidas (Musser y Carleton, 2005; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017), que se distribuyen en casi todos los ambientes terrestres de Norte América, desde las zonas áridas hasta los bosques templados y húmedos

(Sullivan *et al.*, 1997; Tiemann-Boege *et al.*, 2000). El intervalo altitudinal registrado para las especies es desde el nivel del mar hasta 4,300 msnm (Bedford y Hoekstra, 2015).

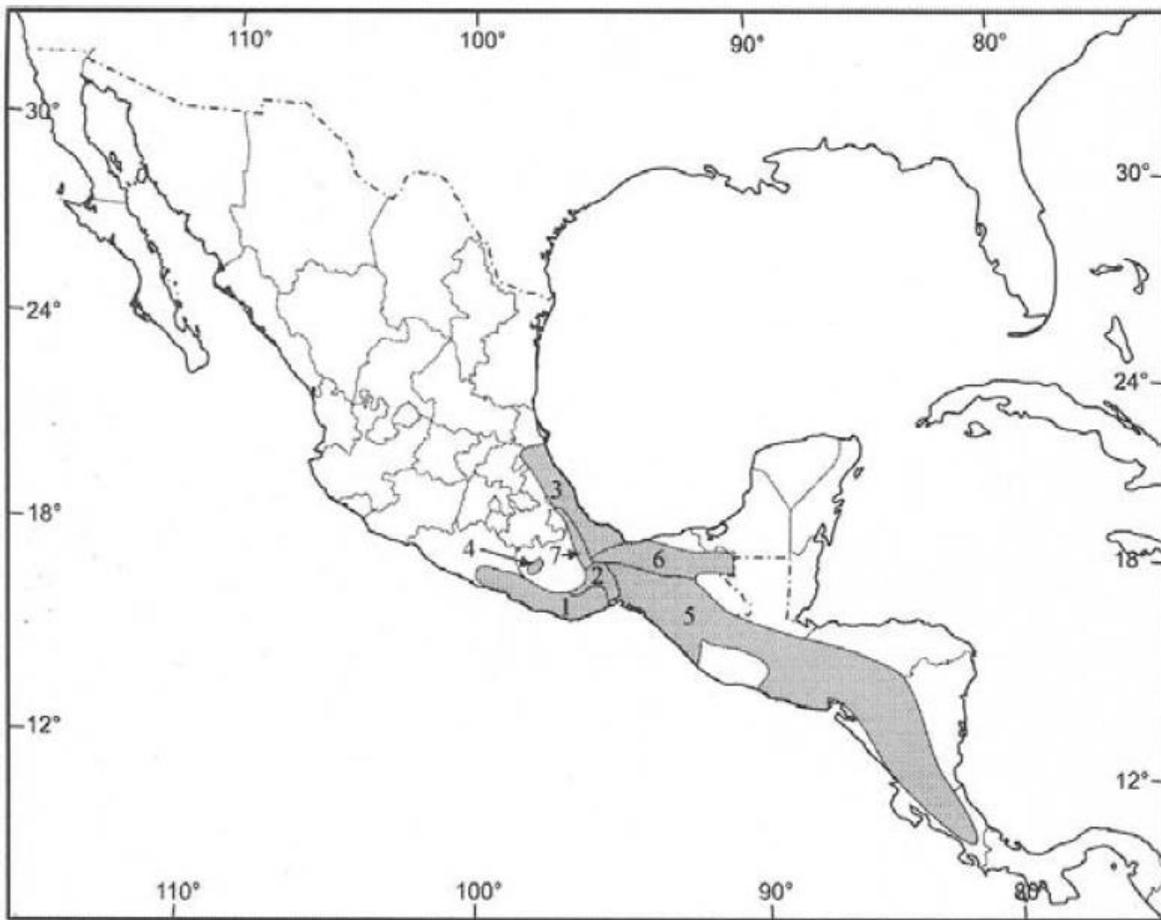


**Figura 2.** Ilustración de *Peromyscus mexicanus*. Tomado de: Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda (2010).

*Peromyscus mexicanus* (Saussure, 1860; Figura 2) pertenece a la familia Cricetidae, subfamilia Neotominae, tribu Reithrodontomyini, subgénero *Peromyscus* y al grupo de especies *mexicanus* (Osgood, 1909). Es un ratón de tamaño mediano, mide de 189 a 257 mm y pesa entre 40.3 y 56.5 g; la coloración general del cuerpo es marrón oscuro con los costados rojizos, el vientre es de color blancuzco y puede presentar un parche rojizo en el pecho, presenta anillo ocular oscuro; la cola es desnuda con manchas blancas ventralmente; presenta hábitos terrestres y es buen trepador (Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda, 2010); su dieta está basada en granos y semillas la cual complementa con invertebrados (Álvarez *et al.*, 1984). De acuerdo con Carleton (1989), comprendía un complejo de siete subespecies: *P. m. angelensis*, distribuido en la Sierra Madre del Sur desde Guerrero hasta Oaxaca; *P. m. azulensis*, restringido a las Montañas y Valles del Centro de Oaxaca; *P. m. mexicanus*, distribuido en las selvas tropicales de Veracruz y en la Planicie Costera del Golfo en Oaxaca; *P. m. putlaensis*, en una región entre la parte oeste de la Sierra Madre del Sur y el suroeste

de las Montañas y Valles del Occidente de Oaxaca; *P. m. saxatalis*, desde el Istmo de Tehuantepec hasta Panamá; *P. m. teapensis*, en las selvas húmedas de Veracruz y Tabasco; *P. m. totontepecus*, restringido a las montañas de la Sierra Madre de Oaxaca (Huckaby, 1980; Hall, 1981; Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda, 2010; Figura 3).

El análisis de la diversidad genética nos proporciona información útil para conocer los procesos evolutivos y las relaciones filogenéticas de los taxa, así como la vulnerabilidad de una población ante posibles cambios en el entorno (Lino *et al.*, 2018). Para conocer esta diversidad genética se utilizan los marcadores moleculares como herramientas informativas (Jiménez y Collada, 2000). Éstas nos permiten identificar especies que son morfológicamente similares, reconstruir las relaciones filogenéticas entre poblaciones simpátricas y para establecer la relación de poblaciones geográficamente alejadas ( ).



**Figura 3.** Distribución de *Peromyscus mexicanus* después de la revisión de Carleton 1989: 1) *P. m. angelensis*; 2) *P. m. azulensis*; 3) *P. m. mexicanus*; 4) *P. m. putlaensis*; 5) *P. m.*

*saxatalis*; 6) *P. m. teapensis* y 7) *P. m. totontepecus*. Tomado de: Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda (2010).

El marcador molecular utilizado con mayor frecuencia para establecer las relaciones filogenéticas entre los individuos de un mismo género o familia de roedores es el citocromo *b* (Cyt *b*). Considerado como un marcador efectivo para entender la historia evolutiva de los organismos (Bradley *et al.*, 2007). El análisis de las secuencias de Cyt *b* ha permitido generar nuevas hipótesis sobre la diversidad y la historia evolutiva en poblaciones de *Peromyscus* en toda su área de distribución (Bradley *et al.*, 2007; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2015; Cornejo-Latorre, 2017; Sawyer *et al.*, 2017; Harris *et al.*, 2000) y otros roedores (Cañón *et al.*, 2010).

Los análisis de la morfología craneal permiten conocer distintos aspectos sobre la historia natural de los organismos como son: los hábitos alimentarios, variación de edad y el sexo, evolución, además de poder identificarlos y clasificarlos en distintas especies (Monroy-Gamboa *et al.*, 2005; Toro *et al.*, 2010). Dentro de los principales análisis de la morfología craneal está el Análisis de Varianza (ANOVA) y el Análisis de Componentes Principales (ACP). El ANOVA se utiliza cuando se quiere demostrar si las variables craneales entre dos o más poblaciones presentan o no diferencias significativas. Esta prueba nos indica qué variables son las que presentan una diferencia estadísticamente significativa. El ACP es un análisis multivariado que crea nuevas variables (componentes principales) a partir de combinaciones lineales de las variables observadas; la finalidad de este análisis es explicar la mayor proporción de la varianza con el menor número de componentes principales y poder agrupar los datos (Minitab, 2010).

Este trabajo tiene como objetivo evaluar cuál es el efecto del aislamiento geográfico ocasionado por los eventos de transición durante el pleistoceno-holoceno en el flujo genético de las poblaciones de *Peromyscus mexicanus* que habitan la Sierra Madre de Oaxaca (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS) analizando el marcador molecular Cyt *b* y realizando un análisis de la morfología craneal (ANOVA y ACP) con el fin de determinar la posición taxonómica de estas poblaciones dentro del grupo *mexicanus*.

## 2. ANTECEDENTES

La diversidad de mamíferos en las diferentes subprovincias fisiográficas de Oaxaca muestra una clara diferenciación. La subprovincia con menor cantidad de registros es la Depresión del Balsas (Briones-Salas *et al.*, 2015). Cada una de las subprovincias fisiográficas tiene diferencias en la diversidad  $\alpha$  y  $\beta$  (León-Paniagua y Morrone, 2009). Esto se debe a la heterogeneidad física y a las barreras geográficas que existen, como es el caso de los ríos. Estas similitudes y disimilitudes entre las regiones pueden ser causadas por los fenómenos de expansión y contracción de los bosques de templados durante el pleistoceno y las poblaciones de mamíferos asociadas a ellos (León-Paniagua y Morrone, 2009).

Los patrones de distribución de algunos géneros (i. e., *Reithrodontomys*) muestran una similitud a algunos complejos de especies del género *Peromyscus* (i. e., *P. aztecus* / *P. hylocetes*) en las regiones montañosas de Oaxaca y los estados colindantes. Al analizar la diversidad genética en estos organismos y determinar la fecha en que existieron los eventos que produjeron la vicarianza en las poblaciones se puede predecir el evento geológico que los generó, correlacionando dichas variables (Rogers *et al.*, 2000). El grupo de especies *Peromyscus mexicanus* es un complejo de 12 especies con afinidad tropical; en México se distribuye *P. carolpattonae*, *P. grandis*, *P. guatemalensis*, *P. gymnotis*, *P. mexicanus* y *P. zarhynchus* (Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019), además seis especies con distribución restringida para Centroamérica: *P. bakeri*, *P. gardneri*, *P. nicaraguae*, *P. nudipes*, *P. salvadorensis* y *P. tropicalis* (Ordoñez-Garza *et al.*, 2010; Bradley *et al.*, 2016; Lorenzo *et al.*, 2016; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez 2015, 2017; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019).

Las poblaciones de *P. mexicanus* han estado en constante revisión por diversos autores en los que se han descrito especies nuevas (Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2015; Lorenzo *et al.*, 2016; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019). La primer revisión del grupo la realizó Huckaby (1980) donde varias subespecies descritas, para Centro América, ahora son consideradas especies válidas (Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2015). En su trabajo, Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez (2017) definen la biogeografía de las especies para el núcleo montaño de Centro América y realizan una correlación con una distribución altitudinal de cada especie y su variación con los ambientes en los que se

encuentran. Las poblaciones de *P. m. saxatalis*, *P. m. nicaraguensis*, *P. m. salvadoresis* y *P. m. tropicalis* distribuidas desde Guatemala hasta Panamá ahora son reconocidas como especies distintas (Ordoñez-Garza *et al.*, 2010; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2015; Bradley *et al.*, 2016; Lorenzo *et al.*, 2016; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019).

Uno de los primeros estudios para conocer la diversidad genética del género *Peromyscus* es el de Bradley *et al.* (2007) donde realizaron una reconstrucción filogenética mediante el uso del marcador *Cytb* de todas las especies de *Peromyscus* descritas hasta el momento. Los resultados que obtuvieron confirmaron los grupos de especies propuestos por Musser y Carleton (2005). Sin embargo, algunas especies quedaron sin un grupo determinado, pero para el caso del grupo *mexicanus* resultó ser monofilético.

En particular, para el caso del grupo *mexicanus* por medio de una reconstrucción filogenética en las montañas de Guatemala y sureste de México, Ordoñez-Garza y colaboradores (2010) utilizaron el gen *Cytb* y un análisis de la morfología craneal para lograr sus objetivos, concluyeron que aunque hay poblaciones cercanas, puede haber alta variabilidad y la posibilidad de que existan especies crípticas no reconocidas.

Más adelante, Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez (2015), evaluaron los límites de seis especies del grupo *mexicanus* de Centroamérica mediante el marcador *Cytb*, proponen que el grupo *mexicanus* está formado, por lo menos, por 15 linajes distintos bien diferenciados. Sin embargo, en su estudio no contemplan ejemplares de las sierras de Oaxaca.

Bradley y colaboradores (2016) evaluaron si *Peromyscus nudipes* es especie válida utilizando el marcador molecular *Cytb* para reconstruir su filogenia, incluyeron a las otras especies del grupo *mexicanus*. En el estudio concluyeron que la distribución de *P. nudipes* pudiera ser restringida únicamente a las montañas más elevadas de Centroamérica.

En contraparte, Lorenzo y colaboradores (2016) realizaron un análisis filogenético, utilizando el mismo marcador molecular (*Cytb*), junto con un análisis de la morfología craneal, de las poblaciones de *P. zarhynchus* de Chiapas y Guatemala, se demuestra que las poblaciones de Chiapas son un linaje distinto de las de Guatemala por lo que proponen

cambios taxonómicos a nivel especie donde *P. zarhynchus* queda restringido a las montañas de Chiapas y nombran a *P. gardneri* a las poblaciones de la Sierra de los Cuchumatanes, Guatemala.

Las especies incluidas en el grupo *mexicanus* fueron reevaluadas para analizar los 15 linajes previamente determinados, y los correlacionan con la variabilidad del cráneo (Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017). El estudio concluye que hay diferencias morfológicas entre las poblaciones de altitudes bajas y las de altitudes elevadas, y proponen que la diversidad morfológica y genética es resultado de la diversificación ecológica y adaptativa originada durante los cambios geográficos y climáticos del Pleistoceno.

La revisión de ejemplares de La Sierra Madre del Sur y del arco volcánico de Centro América tiene como resultado la determinación de dos especies más del grupo *mexicanus*, *Peromyscus bakeri* y *P. carolpattonae* (Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019)

Independientemente de los estudios mencionados, la sistemática del grupo *mexicanus* sigue siendo confusa, además, los distintos gradientes altitudinales y la diversidad de ecosistemas en México y Centroamérica influyen en esta diversidad (Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017). También está claro que en los últimos estudios, se ha dejado un hueco de información al no considerar muestras, tanto genéticas como morfológicas, de las poblaciones de *Peromyscus mexicanus* en Oaxaca, la mayoría de los estudios han sido realizados sólo con ejemplares de Veracruz, Chiapas y Centroamérica. Aunado a la acelerada fragmentación de hábitats, es prioritario conocer la diversidad de especies, algunas de ellas que son crípticas.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las regiones montañosas de Oaxaca representan un modelo ideal para estudiar los procesos que determinan la diversidad genética de especies de mamíferos, debido a las características climáticas, fisiográficas y geológicas que presentan (García-Mendoza *et al.*, 2004). Dentro de los modelos más estudiados están los ratones del género *Peromyscus*, ya que presentan patrones de distribución variados: algunos tienen una amplia distribución y otros taxones son endémicos de una región (*i. e.*, *Peromyscus melanocarpus* [Rickart y Robertson, 1985]). La sistemática del grupo *mexicanus* anteriormente se basaba en las características morfológicas para separar a las especies (Huckaby, 1973, 1980; Smith *et al.*, 1986; Rogers y Engstrom, 1992), actualmente se utilizaron marcadores moleculares para elucidar la relación filogenética entre las especies centroamericanas (Ordoñez-Garza *et al.*, 2010; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2015; Lorenzo *et al.*, 2016; Pérez-Consuegra y Vázquez-Domínguez, 2017; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019). Debido a esto, a los pocos registros analizados de *Peromyscus mexicanus* provenientes del sur de Oaxaca y a que ha habido cambios taxonómicos en otras subespecies subespecies (*P. m. saxatalis* y *P. m. teapensis*), sumado a la acelerada destrucción de los ecosistemas y con la posibilidad de describir especies nuevas con distribución restringida, es importante realizar estudios para conocer la diversidad de las especies en las Montañas de Oaxaca con el objetivo de realizar un manejo y conservación adecuados. Por otro lado, México es un país megadiverso rico en endemismos, por lo tanto es de gran importancia determinar el número de especies endémicas.

#### 4. HIPÓTESIS

Si el aislamiento geográfico tiene un efecto sobre el flujo genético de dos poblaciones de la misma especie de *Peromyscus mexicanus*. Entonces las poblaciones que se distribuyen en las Sierra Madre de Oaxaca estarán genéticamente separadas de las poblaciones de la Sierra Madre del Sur. Si esto es cierto, los *Peromyscus mexicanus* de la Sierra Madre de Oaxaca conforman linajes filogenéticos distintos a los *P. mexicanus* de la Sierra Madre del Sur y del resto de su distribución.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

- Revisar la sistemática molecular y la variación de la morfología craneal para reconstruir la historia evolutiva de *Peromyscus mexicanus* de alta montaña en el sur de México..

### 5.2 Objetivos particulares

- Realizar la reconstrucción filogenética de *Peromyscus mexicanus* para inferir su historia evolutiva mediante el gen mitocondrial *Cytb*.
- Realizar un análisis de variación de la morfología craneal de *Peromyscus mexicanus* en dos ambientes contrastantes de montaña en el sur de México.
- Estimar la distancia genética de *Peromyscus mexicanus* de la Sierra Madre de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur de Oaxaca con respecto a otras especies del grupo *mexicanus*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Área de estudio

El estado de Oaxaca se ubica dentro de las coordenadas geográficas 15.65° a 18.65° N, -98.46° a -93.53° W. Tiene una extensión territorial de 95,364 km<sup>2</sup> lo que equivale al 4.8% del territorio nacional y una altitud máxima de 3,700 msnm (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2011). Oaxaca tiene influencia de dos principales provincias fisiográficas, la Sierra Madre Oriental -formando la Sierra Madre de Oaxaca (SMO)- y la Sierra Madre del Sur -conformando la Sierra Madre del Sur de Oaxaca (SMS)- s (Ortiz, Hernández y Figueroa, 2004; Trejo, 2004).

En este estudio se analizaron ejemplares provenientes de cuatro localidades ubicadas en estas dos subprovincias fisiográficas de Oaxaca: una localidad en la SMO y tres localidades en a SMS (Figura. 3, Apéndice 1), sin embargo, es importante mencionar que el esfuerzo de captura se realizó en un total de 20 localidades.

*Sierra Madre de Oaxaca:* tiene una superficie de 17,519 km<sup>2</sup>, al noroeste colinda con el estado de Puebla, al noreste con la Planicie Costera del Golfo, al este con la Depresión del Istmo de Tehuantepec y la Planicie Costera de Tehuantepec, al sur con los Valles centrales y Montañas y Valles del Centro; al oeste colinda con la Fosa de Tehuacán (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). Presenta alrededor de 120 cumbres que superan los 2,500 msnm, aunque la mayor parte de las montañas no alcanzan esta altitud. Esta subprovincia es atravesada principalmente por dos ríos: el río Santo Domingo que forma el cañón de Tecomavaca y el río Grande que cruza la Sierra de Juárez (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). Presenta complejos metamórficos del mesozoico, rocas calizas arrecifales, lutitas, areniscas y evaporitas del jurásico y cretácico inferior; también tiene afloramientos de tobas volcánicas del terciario (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). El centro de la Sierra Madre de Oaxaca se divide en cuatro ejes orográficos: un complejo minolítico, el eje longitudinal de la que la Sierra de Juárez, el eje de la Sierra de Cempoaltépetl-Mixe y el eje meridional sobre el que se interceptan los anteriores (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004).

*Sierra Madre del Sur:* al norte limita con las Montañas y Valles del Occidente, Valles Centrales y Montañas y Valles del Centro, al Sur con la Planicie Costera del Pacífico, al este

con una porción de la Sierra Madre de Oaxaca y la Planicie Costera de Tehuantepec y al oeste colinda con el estado de Guerrero. Tiene una extensión de 12,350 km<sup>2</sup> (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). La parte media de esta subprovincia presenta las cumbres más altas, superiores a los 2,000 msnm. El río Verde es el principal que atraviesa la SMS desembocando al occidente del Parque Nacional Lagunas de Chacahua (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). El oeste de esta subprovincia está formado por rocas metamórficas del complejo Acatlán del paleozoico y rocas ígneas intrusivas de granito, en el centro hay rocas del complejo del Precámbrico e intrusiones ígneas de granitoides del Terciario, en el este predominan afloramientos de rocas volcánicas terciarias y sedimentos de tobas del Mesozoico. La Sierra de Miahuatlán destaca debido a que ahí convergen varios ejes orográficos transversales y presenta cumbres de hasta 3,500 msnm (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004).

## 6.2 Vegetación

El tipo de vegetación predominante en el estado de Oaxaca son los bosques de pinoencino (21.3% del territorio estatal), bosques tropicales secos (15.9%), bosques tropicales húmedos (11.9%), pastizales (14.6%), bosques de pinos (5.9%) y matorrales (0.7%). Las áreas agrícolas representan un 17.7% (Santos-Moreno, 2014). Las localidades donde se realizaron las colectas están dominadas por bosques templados, bosques tropicales y matorral.

*Sierra Madre de Oaxaca:* en esta subprovincia predominan los bosques de *Quercus*, *Pinus* y *Abies*, componen al bosque mesófilo de montaña, bosques tropicales y por último está el matorral xerófilo (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004). La Esperanza, Santiago Comaltepec tiene vegetación de bosque mesófilo de montaña.

*Sierra Madre del Sur:* esta subprovincia es dominada por bosques de *Quercus* y *Pinus* que conforman bosque mesófilo de montaña, por otro lado, están las selvas medianas subperennifolias y matorrales junto con las selvas bajas caducifolias en áreas muy restringidas (García-Mendoza y Torres, 1999). San Felipe Lachilló y San José de las Flores presentan vegetación dominada por selva media mientras que San Francisco Huamelula tiene vegetación de selva baja.

### 6.3 Clima

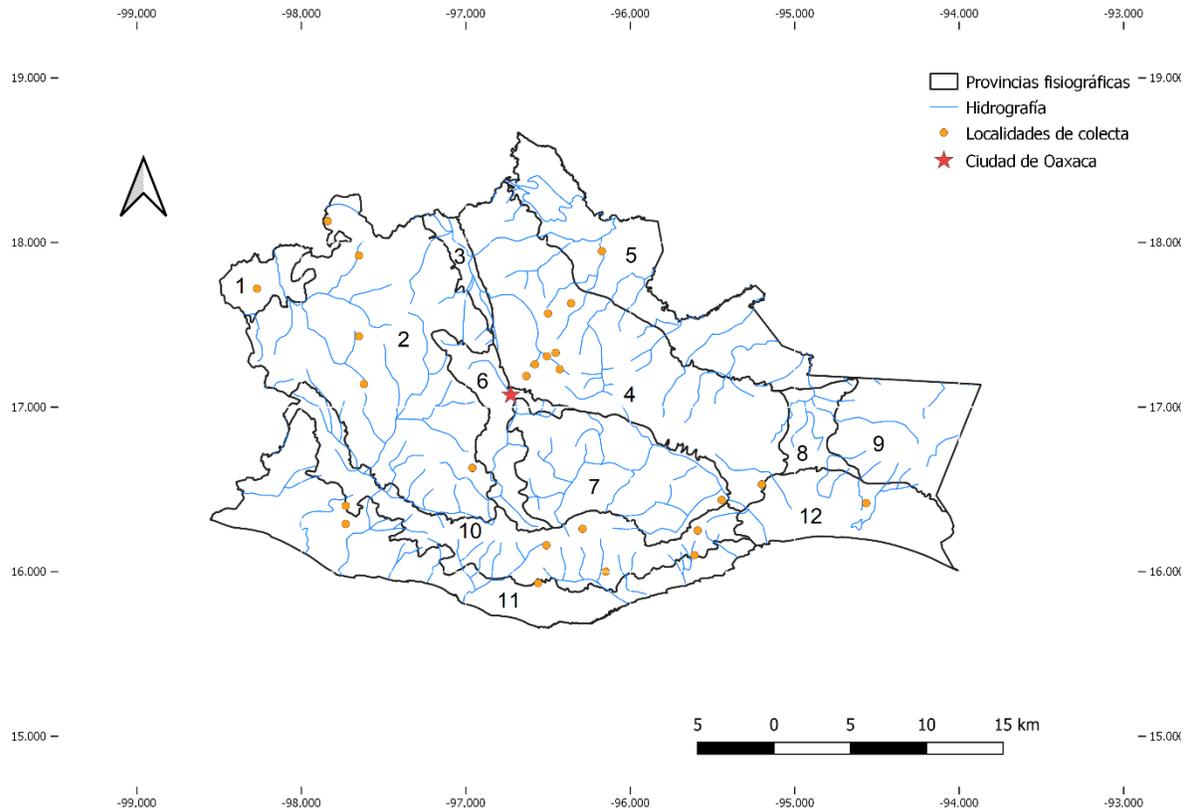
El 47% de la superficie del estado presenta clima cálido subhúmedo que se localiza en toda la zona costera y hacia el este. El 22% presenta clima cálido húmedo localizado principalmente en la región norte, 16% clima templado húmedo en las partes altas orientales de los cerros Volcán Prieto y Humo Grande, 11% clima seco y semiseco en la región centro sur y noroeste, el restante 4% clima templado subhúmedo hacia el sur y noroeste del estado en zonas con altitudes entre 2,000 y 3,000 msnm (INEGI, 2011). La fisiografía de Oaxaca propicia la existencia de 26 tipos de climas (Trejo, 2004). El principal clima en las localidades de este estudio es el templado húmedo, seguido por clima tropical y seco.

*Sierra Madre de Oaxaca.* Los tipos de clima predominantes en esta subprovincia son cálido húmedo A(f) y semicálido húmedo (A)C(fm). Las temperaturas promedio oscilan de 22 a 24 °C y de 18 a 22 °C respectivamente, la precipitación anual promedio es de 4,003 y 3,800 mm, respectivamente (Trejo, 2004).

*Sierra Madre del Sur.* Los principales tipos de clima son cálido húmedo A(f) y semicálido subhúmedo (A)C(fm). La temperatura media anual va de 22 a 26 °C y en las zonas más altas de 18 a 22 °C, presenta lluvias de mayo a octubre con una precipitación anual de entre 3,000 y 3,500 mm (Trejo, 2004).

### 6.4 Recolección de ejemplares

La recolección de los ejemplares se realizó mediante el uso de trampas tipo Sherman, durante el periodo de abril a agosto de 2016. Se colocaron 360 trampas durante tres noches por cada una de las 20 localidades (Figura 3). Las trampas se distribuyeron en cuatro transectos separadas cada 10 metros entre ellas para cubrir la mayor área posible.



**Figura 4.** Localidades donde se realizó la recolecta de los ejemplares de *Peromyscus* sp. Las subprovincias fisiográficas son las siguientes: 1) Depresión del Balsas; 2) Montañas y Valles del Occidente de Oaxaca; 3) Fosa de Tehuacán; 4) Sierra Madre de Oaxaca; 5) Planicie Costera del Golfo; 6) Valles Centrales de Oaxaca; 7) Montañas y Valles del Centro; 8) Depresión Istmica de Tehuantepec; 9) Sierra Madre del Sur de Oaxaca y Chiapas; 10) Sierra Madre del Sur, 11) Planicie Costera del Pacífico y 12) Planicie Costera de Tehuantepec.

Las trampas fueron cebadas con una mezcla de avena, crema de cacahuete y esencia de vainilla para atraer a los roedores. Se colocaron durante la tarde y se revisaron hasta la mañana siguiente. Los individuos recolectados fueron identificados en campo con base en sus caracteres morfológicos externos (medidas somáticas y color del pelaje). La identificación final se realizó en laboratorio con base a las características craneales siguiendo las claves taxonómicas de Álvarez-Castañeda *et al.* (2015).

Los ejemplares adultos fueron sacrificados mediante cámara de cloroformo, las hembras preñadas o lactantes y crías fueron liberados, se les realizó taxidermia y se tomó una muestra de tejido muscular. La muestra de tejido se preservó en tubos de 1.8 ml con etanol

al 96%. Los ejemplares recolectados y los tejidos fueron depositados en la colección mastozoológica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste en La Paz, B.C.S.(CIBNOR) para su posterior análisis morfológico y molecular. Todos los ejemplares fueron manipulados de acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Americana de Mastozoólogos (Sikes *et al.*, 2016).

## 6.5 Análisis moleculares

Se examinó gen mitocondrial citocromo *b* (*cytb*;  $n = 22$ ); 14 individuos son correspondientes a la SMO (La Esperanza: Santiago Comaltepec: 10 km S, 5 km W Valle Nacional) y 8 a la SMS (0.62 km NE, San José de las Flores [ $n = 1$ ], 0.5 km W, San Felipe Lachilló [ $n = 2$ ] y 0.5 km N, San Francisco Huamelula [ $n = 5$ ]).

*Extracción:* Se tomó una muestra de 30 microgramos de tejido muscular para colocarlo en un tubo eppendorf de 1.8 ml. Se adicionó 140  $\mu$ l de buffer de lisis (100 mM NaCl, 100 mM EDTA pH 8.0 y 50 mM Tris pH 8.0), 80  $\mu$ l de SDS 10% y 10  $\mu$ l de Proteinasa K [10 mg/ml]. Las muestras fueron maceradas y se dejaron incubar durante tres horas a 55 °C. Posterior al macerado, las muestras fueron centrifugadas a 14 mil RPM durante cinco min. Se recolectó el sobrenadante en tubos nuevos al cual se le adicionó 180  $\mu$ l de NaCl saturado (6M). Las muestras fueron incubadas en baño de hielo por 10 min, se centrifugaron a 14,000 RPM durante cinco minutos. El sobrenadante recuperado fue colocado en un tubo nuevo y se le adicionó Isopropanol para realizar la precipitación del ADN. Las muestras se dejaron reposar durante toda la noche hasta la mañana siguiente. Después de la precipitación, las muestras fueron centrifugadas a 14,000 RPM durante siete minutos, se conservó el pellet al cual se le realizaron dos lavados con alcohol al 80%. Al terminar los lavados con alcohol, las muestras fueron centrifugadas a 13,000 RPM durante siete minutos. Se dejó evaporar completamente el alcohol para que las muestras fueran hidratadas con agua grado molecular y pasar a la amplificación (Sambrook *et al.*, 1989).

*Amplificación:* la amplificación del gen Citocromo b (Cyt *b*, ~800 pb), se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo a los siguientes componentes y concentraciones: 0.5  $\mu$ L de templado (10ng), 9.3374  $\mu$ L de ddH<sub>2</sub>O, 1.25  $\mu$ L de Buffer PCR 10X, 0.375  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> (50mM), 0.25  $\mu$ L de cada primer MVZ05/MVZ16

(CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT G/AAA TAG GAA RTA TCA YTC TGG TTT RAT; Smith 1998), 0.25  $\mu$ L de BAS 10%, 0.187  $\mu$ L dNTPs (10mM), 0.1  $\mu$ L Taq polimerasa (platinum, Invitrogen) dando un volumen total de 12.5  $\mu$ L. Las condiciones de la reacción de PCR fueron las siguientes: un ciclo de desnaturalización inicial a 96 °C por tres minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 segundos, alineación a 50 °C por 45 segundos, extensión 72 °C por un minuto; al terminar los 35 ciclos, se mantuvo a 72 °C por cinco minutos para que los dNTPs se integraran en una extensión final y por último enfriamiento a 4°C por tiempo indefinido (Sambrook *et al.*, 1989). Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo en un termociclador T100 ThermalCycler BIO-RAD.

*Verificación de productos de PCR:* Los productos de PCR fueron leídos en gel de agarosa 2%. Se colocó 1  $\mu$ l de colorante Big Dye v3.1 (Applied Biosystems) y se agregaron 3  $\mu$ l de producto de PCR. Los pozos de gel de agarosa fueron llenados con el colorante y el producto PCR. Se corrieron a 90V durante 30 min. Después de los 30 min, el gel fue leído en lámpara UV para verificar que la amplificación fuera exitosa. Los productos de PCR exitosos fueron enviados para su secuenciación al Instituto de Biología de la UNAM.

*Edición y alineación de secuencias.* Los electroferogramas se visualizaron y editaron manualmente utilizando el programa SEQUENCHER 4.1.4 (GeneCodes Corporation). La alineación se realizó con MEGA 10.0.5 (Kumar *et al.*, 2018) usando el algoritmo MUSCLE. Posteriormente, las secuencias fueron traducidas a aminoácidos para comprobar el alineamiento.

## **6.6 Diversidad genética**

Se utilizó el programa DnaSP v6.12.03 para estimar la diversidad haplotídica y nucleotídica de la SMO, de la SMS y de ambas sierras combinadas (Librado y Rozas, 2009).

## **6.7 Análisis filogenéticos**

Se realizaron las aproximaciones filogenéticas de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB) para estimar la topología de los arboles filogenéticos de *P. mexicanus* de Oaxaca. El modelo evolutivo se seleccionó considerando los Criterios de Información Akaike (AIC en inglés), se utilizó el programa MEGA 10.0.5 (Kumar *et al.*, 2018). Los análisis Bayesianos se realizaron en MrBayes ver.3.2.7 (Ronquist y Huelsenbeck,

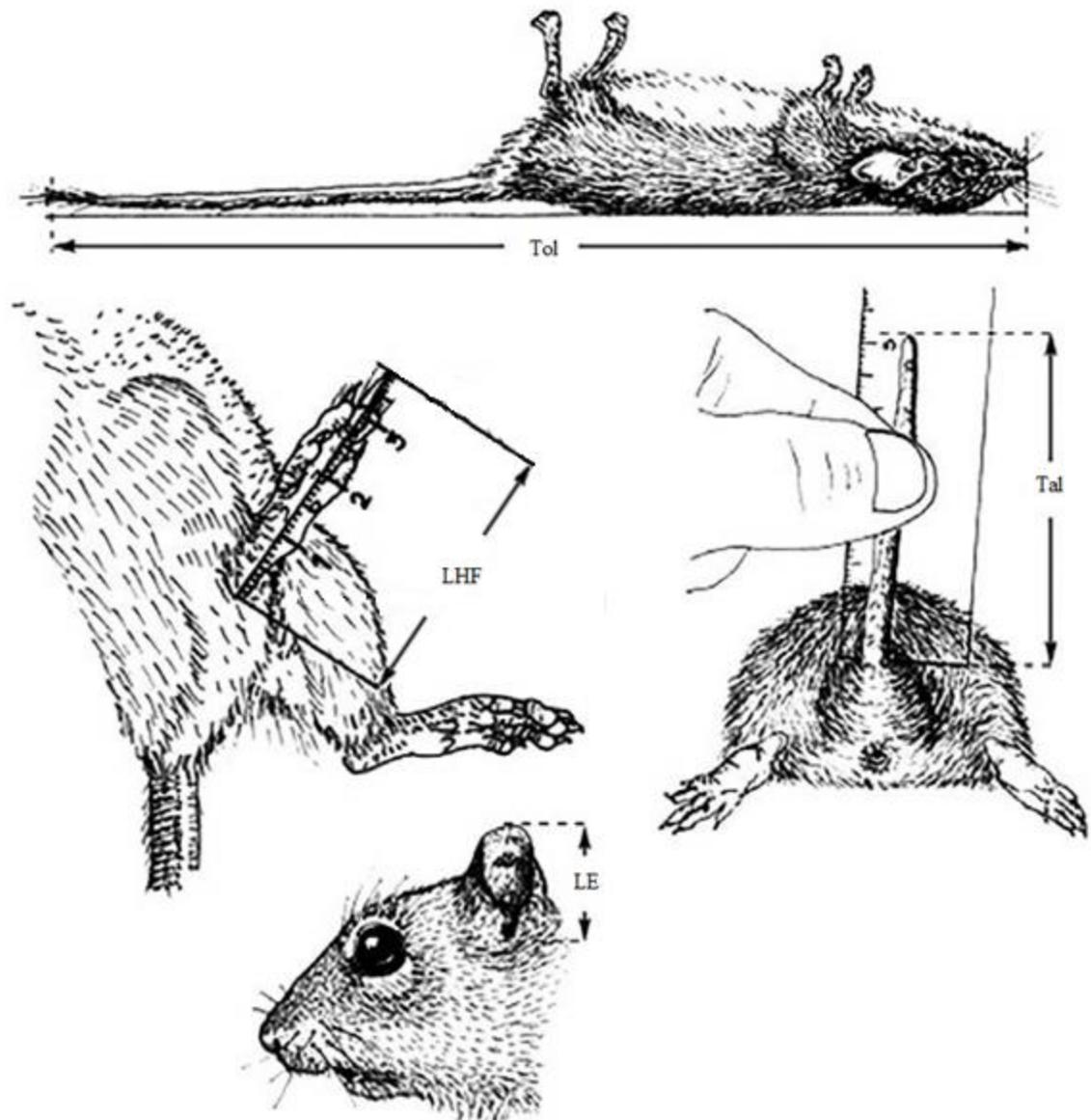
2003) con dos corridas separadas con simulaciones de Monte Carlo de cadenas de Markov (MCMC) con 5,000,000 de generaciones a intervalos de 1,000 generaciones, con las primeras 1,000 muestras de cada corrida descartadas como “burn-in” y los árboles muestreados restantes analizados para encontrar la probabilidad posterior de los nodos resultantes. El análisis de MV se realizó en PAUP\* 4.0a166 utilizando una búsqueda heurística con 1,000 replicaciones y un intercambio con el algoritmo TBR. La fiabilidad de cada posición de los codones se evaluó por separado aplicando pesos iguales. El soporte de los nodos se determinó mediante métodos no paramétricos de bootstrapping. Además, se calcularon las Distancias Genéticas (DG) dentro y entre las poblaciones de *P. mexicanus* contrastando a las poblaciones de la SMO y SMS en el programa MEGA 10.0.5 con el método de Kimura de 2 parámetros (Kumar *et al.*, 2018).

Este análisis incluyó en total 59 secuencias del gen *Cytb*: 22 de ellas obtenidas de ejemplares de *P. mexicanus* de la colección de mamíferos del CIBNOR (SMO  $n = 14$ , SMS  $n = 8$ ), 31 secuencias descargadas de GenBank correspondientes a ejemplares del grupo *mexicanus* utilizadas en estudios filogenéticos previos (Apéndice 1; Bradley *et al.*, 2007; Ordoñez-Garza *et al.*, 2010; Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez, 2015, 2017); como grupo externo se incluyeron seis especies: *Peromyscus furvus* (GQ175974), *P. mayensis* (DQ836300), *P. megalops* (DQ000475), *P. sirtoni* (DQ973108), *Habromys lophurus* (DQ861398) y *Reithrodontomys sumichrasti* (AF108709). Todas las especies pertenecen a tribu Reithrodontomyini y subfamilia Neotominae (Apéndice 1; Amman *et al.*, 2006; Bradley *et al.*, 2007; Rogers *et al.*, 2007; Smith y Patton, 1999). Los árboles filogenéticos fueron observados con el programa FIGTREE 1.4.4 (Rambaut, 2012).

## 6.8 Análisis morfológicos

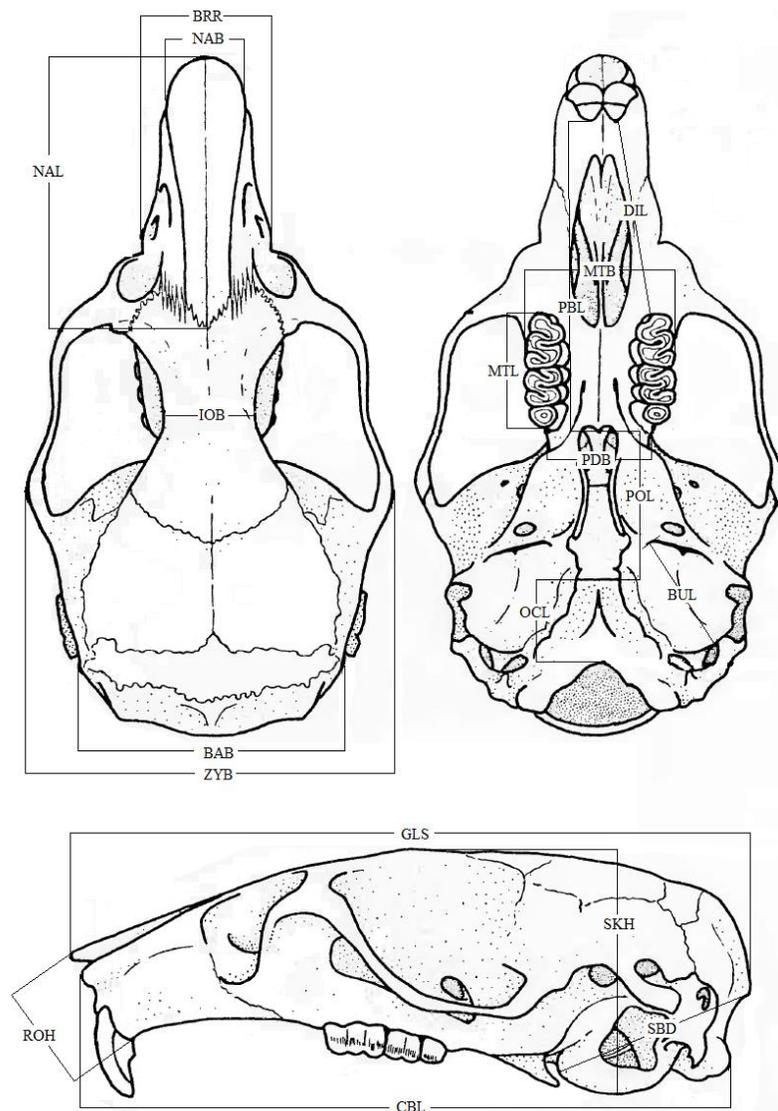
Se tomaron cuatro medidas somáticas de los ejemplares recién colectados, estas medidas fueron: longitud total (ToL), longitud de la cola (TaL), longitud de la pata (LHF) y longitud de la oreja (LE; Figura 4); además se tomaron 19 medidas lineales de cráneos limpios. Se utilizó un vernier digital con precisión de 0.01 mm. Las medidas craneales son las siguientes: máxima longitud del cráneo (GLS), altura del cráneo (SKH), longitud del condilobasal (CBL), longitud bullar (BUL), profundidad del escudo-bular (SBD), longitud de la diastema (DIL), altura del rostro (ROH), ancho del rostro (BRR), longitud del puente

palatino (PBL), longitud postpalatal (POL), longitud basioccipital (OCL), longitud maxilar (MTL), amplitud maxilar (MTB), amplitud postdental (PDB), amplitud cigomática (ZYB), amplitud de la caja craneal (BAB), longitud nasal (NAL) , amplitud interorbital (IOB) y anchura nasal (NAB; Figura 5), todas las siglas son de los nombres en inglés. Las medidas fueron definidas de acuerdo con Williams y Ramírez-Pulido (1084), Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez (2017) y Álvarez-Castañeda *et al.* (2019).



**Figura 5.** Medidas externas utilizadas para el registro y análisis morfológico. Modificado de Godínez y Guerrero (2014).

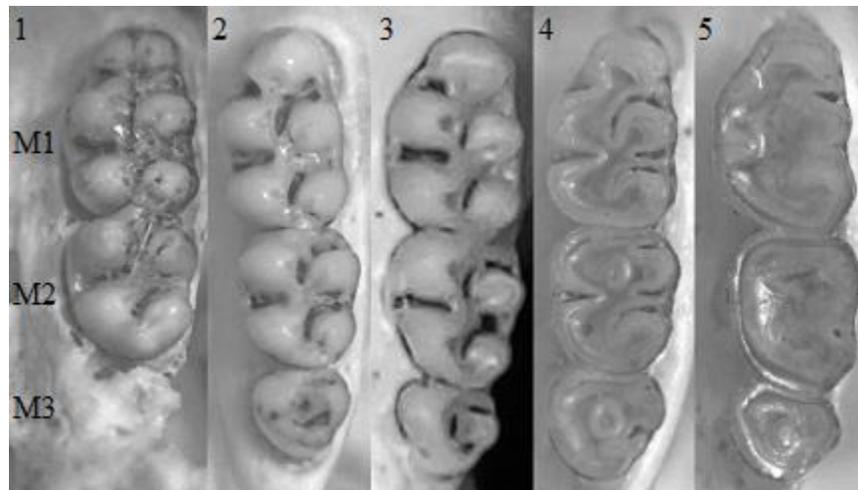
Se asignaron cinco clases de edades de con base en el crecimiento y desgaste dental (Monroy-Gamboa *et al.*, 2005). Las características de cada clase de edad se describen a continuación: edad 1: el tercer molar superior (M3) no está completamente visible, cúspides sin desgaste; edad 2: el tercer molar superior (M3) es completamente visible y tiene la misma altura que el primer (M1) y segundo molares superiores (M2), sólo los bordes linguales de las cúspides presentan desgaste; edad 3: hay desgaste en los tres molares superiores, bordes linguales moderadamente desgastados y los bordes labiales ligeramente gastados; edad 4: desgaste notable en borde labial y lingual, el patrón de las cúspides todavía es visible pero muy levemente en M1 donde sólo hay una luz de dentina rodeada de un halo de esmalte; por último, edad 5: el desgaste de los bordes es severo, ya no es visible el patrón de las cúspides, únicamente se nota ligeramente en M3 (Figura 6).



**Figura 6.** Medidas craneales utilizadas en el análisis morfológico. Se muestran las 19 medidas del cráneo. Modificado de Ávila-Valle *et al.* (2012).

Los individuos asignados a las clases de edad 1 y 2 se consideran juveniles, de la 3 a la 4 adultos, y de la 5 viejos. Se examinó la variación de edad y sexo de 3 grupos: grupo *mexicanus* con  $n = 7$  individuos, 1 individuo asignado a la clase de edad 1-3 y 6 individuos asignados a la clase de edad 4-5. Grupo SMO con  $n = 19$ , 1 con edad 1-3 y 18 con edad 4-5. Grupo SMS,  $n = 12$ , 2 con edad 1-3 y 10 con edad 4-5. Se excluyeron los individuos juvenes

ya que en los análisis demuestran que son significativamente más pequeños. El análisis de la variación sexual se basó en 38 individuos adultos (19 hembras y 19 machos) implementando un análisis de ANOVA en STATISTICA ver. 7.0 (Statsoft, Inc., 2007) para demostrar si las variables craneales entre dos o más poblaciones presentan o no diferencias significativas, además, prueba nos indica qué variables son las que presentan una diferencia estadísticamente significativa (Minitab, 2010).



**Figura 7.** Clases de edades de los *Peromyscus* analizados. Los números son las clases de edades; M1 = Primer molar, M2 = Segundo molar y M3 = Tercer molar.

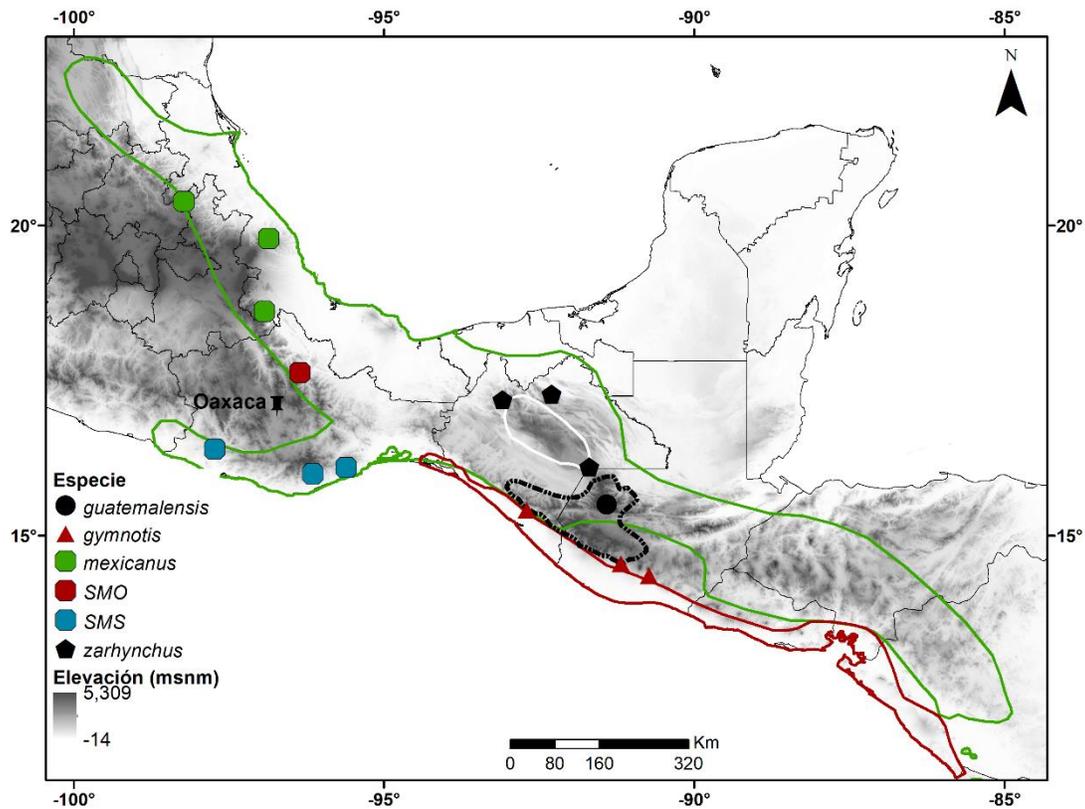
Se realizó el Análisis de Varianzas (ANOVA) de una vía utilizando las 19 medidas craneales para determinar si existen variación de la morfología craneal entre los *Peromyscus* de la SMO y la SMS, adicionalmente se utilizaron ejemplares provenientes del Estado de Veracruz como referencia de fenotipos *Peromyscus mexicanus mexicanus*, 17 individuos de este análisis cuentan con datos genéticos. En el ANOVA se utilizó la prueba de Tukey HSD (honestly significant difference) con una  $N$  desigual (Spjotvoll/stoline) para determinar subconjuntos geográficos mínimamente insignificantes. También se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para distinguir entre los grupos de la SMO, SMS y *P. mexicanus* con el programa STATISTICA ver. 7.0 (Statsoft, Inc. 2007) y Paleontological Statistics PAST (ver. 3.26; Hammer *et al.*, 2001). Los análisis multivariados se realizaron utilizando una transformación logarítmica de las variables para equiparar el “peso” de cada variable y poder hacer una comparación con los estudios previos. Las medidas somáticas no

se incluyeron en los análisis morfológicos debido al posible error en la experiencia de las personas que tomaron las medidas.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Ejemplares analizados

Se sumaron un total de 20,520 noches/trampa, se recolectaron 334 *Peromyscus* sumando un éxito de captura de 1.5%. Del total de ejemplares de *Peromyscus*, 41 individuos fueron identificados morfológicamente en campo como *Peromyscus mexicanus*. Se recolectaron 20 hembras (H) y 21 machos (M). Las localidades en las que se recolectaron los ejemplares fueron las siguientes: 1) En la SMO, La Esperanza, Comaltepec  $n = 22$  (H = 12 y M = 12) y 2); en la SMS, San Felipe Lachilló  $n = 8$  (H = 4 y M = 4), San Francisco Huamelula  $n = 8$  (H = 3 y M = 5) y San José de las Flores  $n = 3$  (H = 1 y M = 2; Figura 7).



**Figura 8.** Distribución geográfica de *Peromyscus mexicanus* (líneas verdes); *P. guatemalensis* (líneas negras punteadas); *P. gymnotis* (líneas rojas); *P. zarhynchus* (líneas blancas). Los datos para la elaboración de los polígonos fueron tomados de IUCN (2019), versión en línea.

El número de ejemplares a los que se le realizó la extracción de DNA mitocondrial y tuvieron una amplificación exitosa del *Cytb* fue: SMO (La Esperanza Comaltepec  $n = 14$ ) y SMS (San Felipe Lachilló  $n = 2$ , San Francisco Huamelula  $n = 5$  y San José de las Flores  $n = 1$ ). El número de ejemplares a los que se les realizó el análisis morfológico fue: SMO (La Esperanza Comaltepec  $n = 19$ ) y SMS (San Felipe Lachilló  $n = 2$ , San Francisco Huamelula  $n = 7$  y San José de las Flores  $n = 3$ ), además de siete ejemplares recolectados en la Estación Biológica de los Tuxtlas, Veracruz identificados como *Peromyscus mexicanus*.

## 7.2 Diversidad Genética

El análisis de diversidad genética de las 59 secuencias del grupo *mexicanus* realizado en DnaSP ver 6.12.03 mostró un total de 36 haplotipos no redundantes, una diversidad nucleotídica de  $Pi = 0.07$ , una diversidad haplotídica de  $Hd = 0.96$ , el valor del estadístico  $F_s$  de Fu = -0.088, la  $D$  de Tajima = -0.64 siendo no estadísticamente significativa ( $P > 0.10$ ) calculando el número total de mutaciones. Para el caso del análisis de las 22 secuencias de *Peromyscus* de la SMO y SMS se obtuvieron 45 sitios variables. La diversidad nucleotídica fue de  $Pi = 0.03$ , hubo nueve haplotipos no redundantes. La diversidad haplotídica fue  $Hd = 0.85$ , el valor de  $F_s$  de Fu = 6.6, la  $D$  de Tajima = 1.94, no fue estadísticamente significativa ( $0.10 > P > 0.05$ ). El análisis de los 14 individuos de la SMO mostró seis haplotipos no redundantes, ocho sitios variables,  $Pi = 0.00286$ ,  $Hd = 0.747$ ,  $F_s$  de Fu = -0.941,  $D$  de Tajima = -0.74, no significativa  $P > 0.10$ . Por último, para los ocho especímenes de la SMS se identificaron tres haplotipos no redundantes,  $Pi = 0.00182$ ,  $Hd = 0.607$ ,  $F_s$  de Fu = 0.671,  $D$  de Tajima = -0.73  $P > 0.10$ .

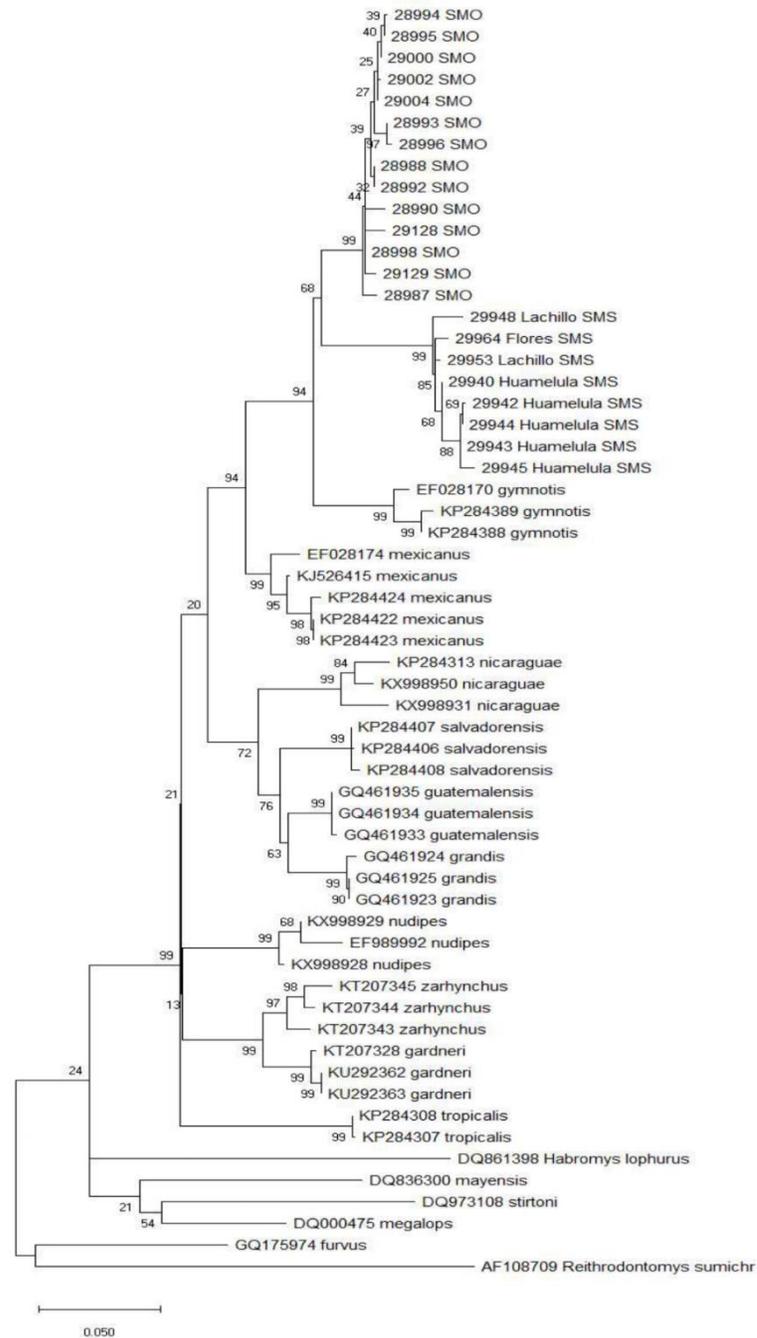
## 7.3 Análisis Filogenéticos

Se analizaron un total de 59 secuencias de *Cytb* (800 pb) de individuos del grupo de especies *Peromyscus mexicanus*. El análisis exploratorio con MEGA ver 10.0.5 reveló que el gen *Cytb* tiene 405 sitios conservados, 395 sitios variables y 257 sitios son parsimoniosamente informativos. El modelo de sustitución molecular que se ajustó de mejor manera a las secuencias del gen *Cytb* fue GTR+I+G (General Time Reversible utilizando una distribución gamma y asumiendo que cierta fracción de los sitios son invariables; Tavaré 1986), se seleccionó mediante los Criterios de Información de Akaike (AIC por sus siglas en inglés), las frecuencias de bases nitrogenadas son las siguientes: A = 31.85, C = 26.66, G =

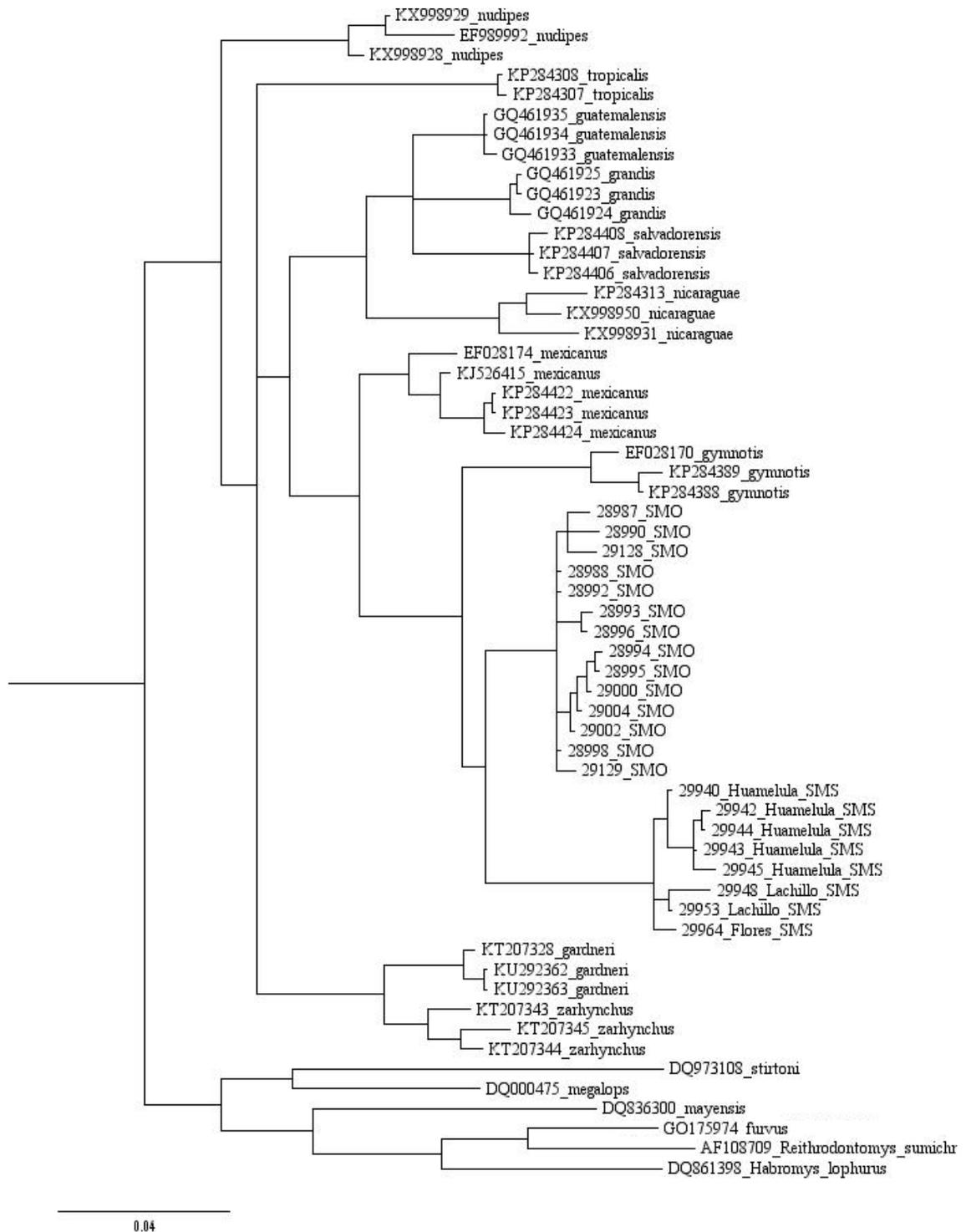
13.25 y  $T = 28.25$ ; además sitios invariables = 0.5427, distribución gamma = 1.0458, AIC = 18936.53,  $-LnL = 9342.92$ .

Los análisis de MV (Figura 8) e IB (Figura 9) identificaron clados recíprocamente monofiléticos dentro del complejo de *P. mexicanus*, además de los descritos por Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez (2017). Los resultados vierten dos clados; el primero para los ejemplares de la SMO y el segundo para las tres localidades de la SMS. En el segundo clado existe un agrupamiento entre los ejemplares de las localidades de San José de las Flores y Lachilló, además los de Huamelula se agupan en un subclado aparte. Los clados de la SMO y SMS están relacionados más cercanamente con *P. gymnotis*, que con las especies conocidas de *P. mexicanus*.

Los especímenes de la SMS fueron entre 4.96% y 6.56% (distancia-p) genéticamente divergentes respecto a los individuos de la SMO; respecto a *P. gymnotis* fueron entre 6.39% y 8.51% divergentes; respecto a *P. mexicanus* tuvieron una distancia genética entre el 6.23% y 8.88. Los individuos de la SMO presentaron una divergencia genética entre 4.79% y 6.38% respecto a *P. gymnotis*; respecto a *P. mexicanus* fue de entre 4.58% y 6.49 (Tabla I). Los individuos de la SMO presentaron una divergencia genética intra-poblacional de 0.73% y los de la SMS de 0.91% (Tabla II).



**Figura 9.** Dendrograma obtenido a partir del análisis de Máxima Verosimilitud de las secuencias de *Cytb* de los *Peromyscus* de la Sierra Madre de Oaxaca y Sierra Madre del Sur. Se incluyen especies del grupo *mexicanus* y se utilizaron como grupo externo a *Habromys lophurus*, *P. mayensis*, *P. stirtoni*, *P. megalops*, *P. furvus* y *Reithrodontomys sumichrasti*. Se muestran los valores de Bootstrap.



**Figura 10.** Dendrograma obtenido a partir del análisis de Inferencia Bayesiana de las secuencias de *Cytb* de los *Peromyscus* de la Sierra Madre de Oaxaca y Sierra Madre del Sur. Se incluyen especies del grupo *mexicanus* y se utilizaron como grupo externo a *Habromys lophurus*, *P. mayensis*, *P. stirtoni*, *P. megalops*, *P. furvus* y *Reithrodontomys sumichrasti*.

**Tabla I.** Matriz de las distancias-*p* expresadas en porcentaje entre las especies del grupo *Peromyscus*. Los valores están separados por diagonal de la siguiente manera: mínimo/promedio/máximo. Los valores de error estándar se muestran en la matriz superior.

Taxa	<i>zarhynchus</i>	<i>gardneri</i>	<i>nudipes</i>	<i>tropicalis</i>	<i>guatemalensis</i>	<i>grandis</i>	<i>salvadorensis</i>
<i>zarhynchus</i>		0.0056	0.0089	0.0098	0.0088	0.0088	0.0094
<i>gardneri</i>	3.53/3.91/4.29		0.0088	0.0099	0.0090	0.0092	0.0099
<i>nudipes</i>	7.05/7.72/8.35	6.82/7.45/8.23		0.0093	0.0091	0.0095	0.0095
<i>tropicalis</i>	8.41/8.94/9.43	8.81/9.13/9.32	7.48/8.43/9.48		0.0101	0.0102	0.0095
<i>guatemalensis</i>	7.55/7.84/8.18	7.44/7.8/8.07	7.81/8.05/8.52	8.54/8.6/8.66		0.0063	0.0073
<i>grandis</i>	7.93/8.33/8.61	7.83/8.02/8.38	8.48/8.89/9.59	8.78/8.91/9.11	3.78/3.97/4.37		0.0076
<i>salvadorensis</i>	7.64/8.2/8.66	8.3/8.73/9.07	7.76/8.13/8.35	7.51/7.74/8.02	4.2/4.46/4.84	4.71/4.96/5.26	
<i>nicaraguae</i>	6.98/7.97/8.93	7.49/8.04/8.56	7.39/7.87/8.43	7.77/8.13/8.36	5.39/5.88/6.46	6.41/6.76/7.46	6.24/6.57/7.05
<i>mexicanus</i>	6.73/7.66/8.27	6.3/7.13/7.53	6.82/7.52/8.49	7.17/7.68/8.03	5.91/6.69/7.38	5.56/6.44/6.94	5.99/6.83/7.39
<i>gymnotis</i>	8.67/9.09/9.46	8.18/8.58/8.91	8.35/8.92/9.52	8.43/8.62/8.81	8.16/8.34/8.67	8.3/8.48/8.76	8.56/9.03/9.45
SMO	7.64/8.61/9.56	7.57/7.97/8.58	6.96/8.06/9.21	8.41/8.79/9.17	7.5/7.89/8.55	7.22/7.6/8.23	6.94/7.86/8.54
SMS	8.78/9.56/10.43	8.69/9.4/10.06	8.66/9.19/9.51	9.81/10.15/10.47	8.64/8.91/9.29	8.86/9.3/9.62	8.91/9.56/10.31

**Tabla I.** Continuación...

Taxa	<i>nicaraguae</i>	<i>mexicanus</i>	<i>gymnotis</i>	SMO	SMS
<i>zarhynchus</i>	0.0083	0.0082	0.0091	0.0089	0.0092
<i>gardneri</i>	0.0088	0.0085	0.0096	0.0093	0.0096
<i>nudipes</i>	0.0081	0.0086	0.0094	0.0089	0.0096
<i>tropicalis</i>	0.0084	0.0087	0.0088	0.0095	0.0099
<i>guatemalensis</i>	0.0071	0.0086	0.0097	0.0093	0.009
<i>grandis</i>	0.0078	0.0081	0.0092	0.009	0.0099
<i>salvadorensis</i>	0.0081	0.0085	0.0096	0.0093	0.01
<i>nicaraguae</i>		0.0086	0.0086	0.009	0.0098
<i>mexicanus</i>	7.18/8.1/9.28		0.0084	0.0075	0.009
<i>gymnotis</i>	8.43/9.01/9.67	6.01/6.89/7.65		0.0069	0.0085
SMO	8.34/8.91/9.56	4.58/5.77/6.49	4.79/5.56/6.38		0.0078
SMS	9.36/10.22/11.07	6.23/7.62/8.88	6.39/7.48/8.51	4.96/5.65/6.56	

**Tabla II.** Porcentaje de diferenciación genética (distancia- $p$ ) dentro de las especies del grupo *mexicanus* y dentro de las poblaciones de la Sierra Madre de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur. Se muestran los valores de Error Estandar ( $SE$ ). La tasa de variación se modeló con una distribución gamma

Taxa	distancia- $p$	$SE$
<i>P. zarhynchus</i>	2.05	0
<i>P. gardneri</i>	0.42	0
<i>P. nudipes</i>	1.84	0
<i>P. tropicalis</i>	0.13	0
<i>P. guatemalensis</i>	0.17	0
<i>P. grandis</i>	0.34	0
<i>P. salvadorensis</i>	0.34	0
<i>P. nicaraguae</i>	2.82	0
<i>P. mexicanus</i>	1.49	0
<i>P. gymnotis</i>	1.44	0
Out group	12.33	0.01
SMO	0.73	0
SMS	0.91	0

#### 7.4 Comparaciones morfológicas

Los ejemplares de cada una de las Sierras comparten una morfología similar. Externamente, corresponden a la descripción de *Peromyscus mexicanus* hecha por Trujano-Álvarez y Álvarez-Castañeda (2010). Los especímenes de la SMS son un poco más grisáceos que los de la SMO. El pelaje de los ejemplares de la SMO es más oscuro, rojizo y suave. En los de la SMS el pelaje es más áspero al tacto. En contraste, en los ejemplares de *P. mexicanus* de la Estación “Los Tuxtlas” el pelaje es más oscuro y suave. El vientre tiene una coloración más pálida en los ejemplares de la SMS y SMO, algunos tienen una mancha color rojiza en el pecho. Las patas son blanquecinas para ambas regiones geográficas, con la parte proximal más oscura, casi negra. La cola es larga, con pelo muy corto, dando la apariencia de ser desnuda, suele ser bicolor o manchada de blanco en la parte ventral. Los ejemplares de la SMO presentan la mancha del anillo en el ojo más marcada que los ejemplares de la SMS (Figura 10).

La profundidad del escudo bular (SBD) presentó diferencias significativas (valor  $t = 2.44$ , g.l. = 36, valor  $p = 0.02$ ), con una media de 9.27 mm y 9.1 mm, en machos y hembras, respectivamente. Tres de las 19 medidas craneales tuvieron diferencias significativas entre las clases de edades (Tabla 3).

*Variación geográfica.* Las medias y desviación estándar de las medidas somáticas y craneodentales, obtenidas mediante el ANOVA de una vía, muestran que los *P. mexicanus* de la SMO presentan tallas mayores respecto a los de la SMS ( $P < 0.001$ ; Tabla III). Los ejemplares de la SMO presentan tallas craneales y corporales mayores que *P. mexicanus*; estos últimos son de tamaño similar a los ejemplares de la SMS, inclusive, algunas medidas son mayores.



**Figura 11.** Vista dorsal, ventral y lateral de los cráneos de *Peromyscus* sp. de la SMO (A = La Esperanza Comaltepec), SMS (B = San Francisco Huamelula; C = San Felipe Lachilló; D = San José de las Flores) y *Peromyscus mexicanus* (D = Los Tuxtlas, Veracruz).

**Tabla III.** Medias aritméticas de cuatro medidas externas y 19 medidas craneales de cada grupo de *P. mexicanus* de las Sierras de Oaxaca y Veracruz: (SMO) Sierra Madre de Oaxaca, W La Esperanza Comaltepec ( $n = 19$ ); (SMS) Sierra Madre del Sur, tres localidades diferentes, 0.62 km NE, San José de las Flores ( $n = 3$ ), 0.5 km W, San Felipe Lachilló ( $n = 2$ ) y 0.5 km N, San Francisco Huamelula ( $n = 7$ ); Estación de Biología Tropical los Tuxtlas, Veracruz ( $n = 7$ ). Los valores de  $F$  y los niveles de significancia se obtuvieron mediante el ANOVA de una vía. Las abreviaturas de las medidas se mencionan en el texto; los datos son las medias  $\pm$  la desviación estándar.

	SMO	SMS	<i>mexicanus</i>	$F$	$P$
Tol	253.63 $\pm$ 9.93	231.83 $\pm$ 9.7	227.29 $\pm$ 13.55	23.82	0
Tal	131.47 $\pm$ 10.15	130.25 $\pm$ 26.22	111 $\pm$ 8.72	4.07	0.03
LHF	25.84 $\pm$ 0.9	23.83 $\pm$ 0.94	25.57 $\pm$ 1.51	14.38	0
LE	21 $\pm$ 1.91	20 $\pm$ 1.71	18.14 $\pm$ 2.12	5.91	0.007
GLS	33.83 $\pm$ 1.09	31.98 $\pm$ 2.82	32.2 $\pm$ 1.29	4.38	0.02
SKH	10.91 $\pm$ 0.26	10.91 $\pm$ 0.28	10.87 $\pm$ 0.59	0.04	0.96
CBL	32.43 $\pm$ 0.77	30.88 $\pm$ 0.86	30.43 $\pm$ 1.24	17.95	0
BUL	4.42 $\pm$ 0.19	4.43 $\pm$ 0.22	4.28 $\pm$ 0.34	10.7	0.35
SBD	9.26 $\pm$ 0.21	9.1 $\pm$ 0.2	9.11 $\pm$ 0.28	2.51	0.1
DIL	9.2 $\pm$ 0.22	8.88 $\pm$ 0.4	8.63 $\pm$ 0.49	8.11	0.001
ROH	6.19 $\pm$ 0.29	6.02 $\pm$ 0.2	5.87 $\pm$ 0.44	3.35	0.05
BRR	5.61 $\pm$ 0.37	5.21 $\pm$ 0.18	5.47 $\pm$ 0.35	5.57	0.008
PBL	13.51 $\pm$ 0.37	12.86 $\pm$ 0.37	12.45 $\pm$ 0.5	21.59	0
POL	12.09 $\pm$ 0.38	11.5 $\pm$ 0.46	11.38 $\pm$ 0.54	10.16	0
OCL	4.53 $\pm$ 0.31	4.29 $\pm$ 0.13	4.42 $\pm$ 0.3	3.11	0.05
MTL	4.73 $\pm$ 0.15	4.32 $\pm$ 0.13	4.57 $\pm$ 0.12	32.22	0
MTB	6.51 $\pm$ 0.26	6.31 $\pm$ 0.19	6.31 $\pm$ 0.31	3.16	0.05
PDB	4.38 $\pm$ 0.23	4.24 $\pm$ 0.12	4.45 $\pm$ 0.28	2.56	0.09
ZYB	16.56 $\pm$ 0.46	15.24 $\pm$ 0.44	15.94 $\pm$ 0.89	21.03	0
BAB	13.22 $\pm$ 2.2	13.65 $\pm$ 0.34	13.7 $\pm$ 0.45	0.38	0.7
NAL	13.18 $\pm$ 0.38	12.23 $\pm$ 0.45	12.98 $\pm$ 0.85	12.82	0
IOB	4.96 $\pm$ 0.27	4.95 $\pm$ 0.2	4.83 $\pm$ 0.34	0.57	0.5
NAB	3.72 $\pm$ 0.26	3.52 $\pm$ 0.11	3.69 $\pm$ 0.31	2.77	0.08

**Tabla IV.** Coeficientes de puntuación estandarizados de tres grupos de *Peromyscus mexicanus*, se muestran los eigenvalores, los porcentajes de varianza y porcentaje acumulado.

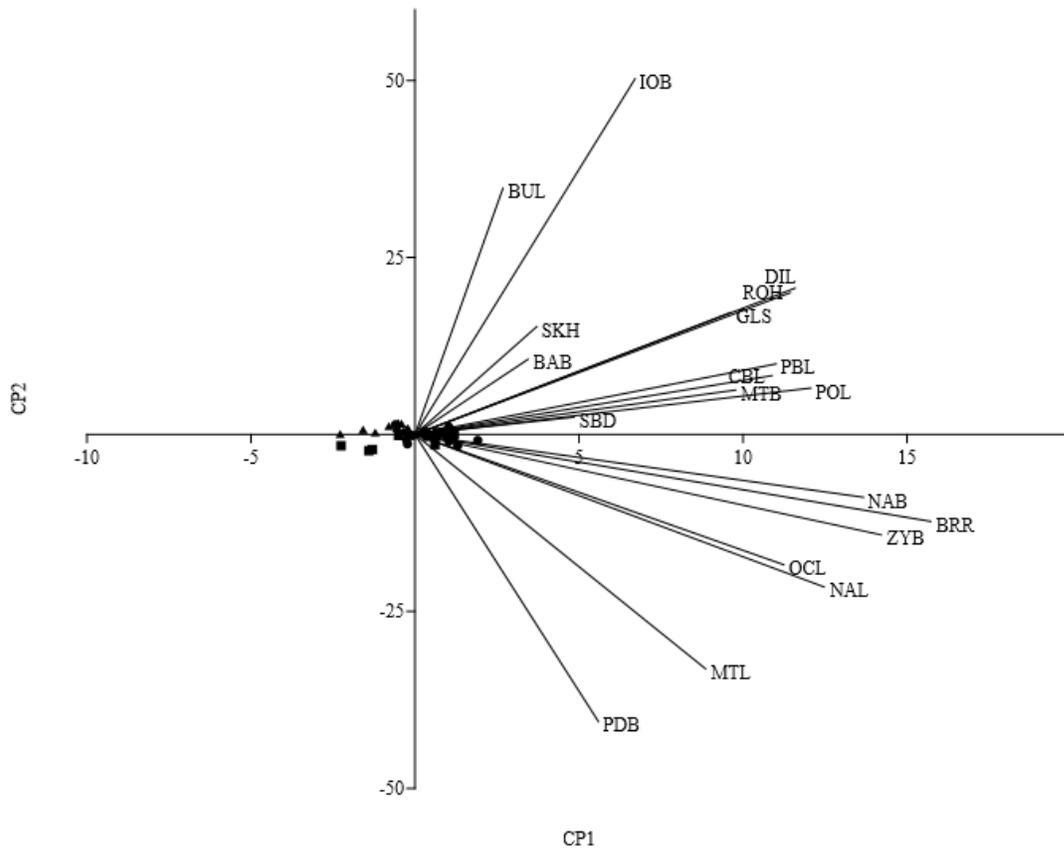
CP	Valor Propio	% Varianza	% Varianza Acumulada
1	0.0037850	46.088	46.0880
2	0.0007893	9.6105	55.6985
3	0.0006737	8.2035	63.9020
4	0.0005750	7.0010	70.9030
5	0.0004907	5.9756	76.8786
6	0.0004247	5.1712	82.0498
7	0.0002900	3.5317	85.5815
8	0.0002299	2.7991	88.3806
9	0.0002178	2.6516	91.0322
10	0.0001658	2.0190	93.0512
11	0.0001516	1.8460	94.8972
12	0.0001191	1.4497	96.3469
13	7.25E-05	0.88327	97.2301
14	6.67E-05	0.81169	98.0418
15	5.89E-05	0.71724	98.7591
16	3.76E-05	0.45806	99.2171
17	2.74E-05	0.33368	99.5508
18	2.00E-05	0.24413	99.7949
19	1.68E-05	0.20466	99.9996

*Análisis de Componentes Principales.* El ACP de las 19 variables muestra que el primer componente principal 46.08% de la varabilidad de los datos, el segundo explica el 9.61% y el tercer el 8.2%. Los tres suman 63.9% de la variación. Sin embargo, es hasta el sexto componente principal que se explica el 82.04% de la variabilidad de los datos (Tabla IV). Las variables que presentan un mayor grado de correlación con el CP1 es el ancho del rostro (BRR) con un valor propio de 0.35, seguido por la anchura del arco cigomático (ZYB = 0.32) y la anchura de los nasales (NAB = 0.31). En el caso del CP2, fueron la amplitud interorbital (IOB), la amplitud postdental (PDB) y la longitud de la bula (BUL) con valores propios de 0.52, -0.42 y 0.36, respectivamente. En el CP3, las variables con mayor correlación fueron la longitud de la bula (0.57), el ancho del rostro (-0.39) y la amplitud interorbital (-0.38, Tabla V; Figura 11).

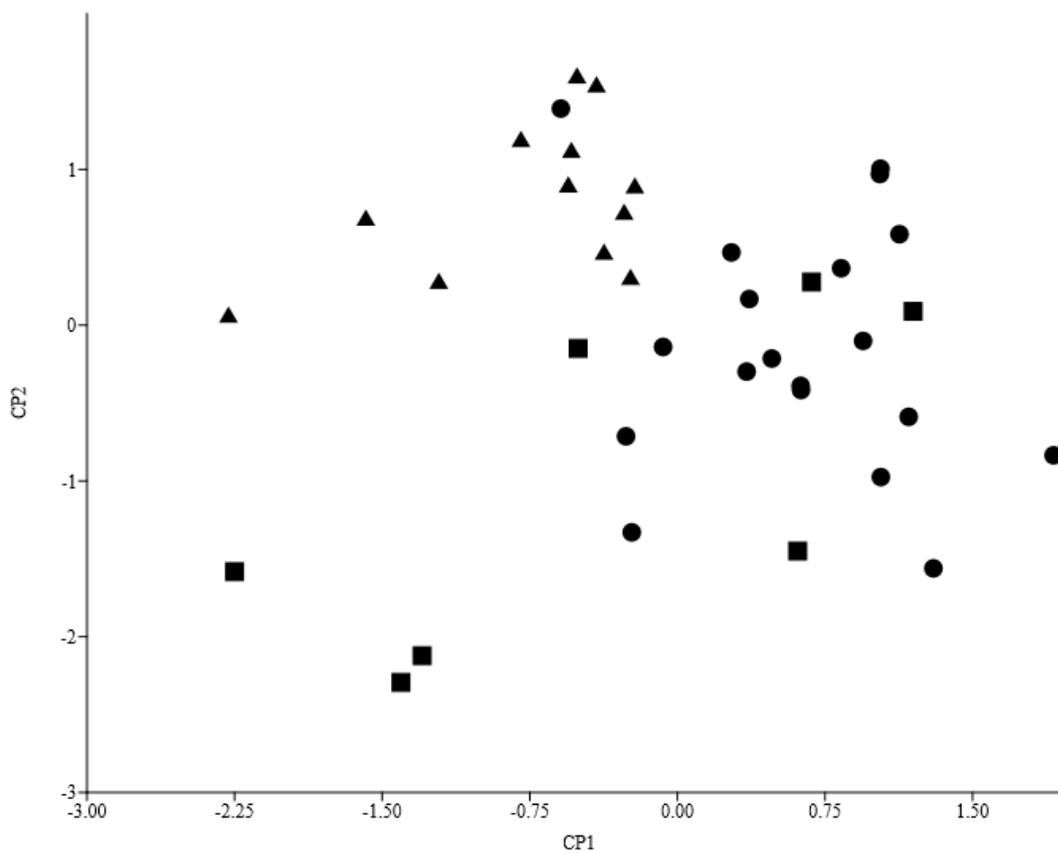
La prueba de distancias de Mahalanobis determinó que no hay valores atípicos en el APC. Por último, la gráfica de puntuación indica que existe una separación entre los individuos de la SMO y los de la SMS, sin únicamente tres ejemplares de Los Tuxtlas se encuentran claramente diferenciados (Figura 12).

**Tabla V.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales sobre la transformación logarítmica de las variables craneodentales de tres poblaciones de *Peromyscus mexicanus* de Los Tuxtlas, Veracruz ( $n = 7$ ), Sierra Madre de Oaxaca ( $n = 19$ ) y Sierra Madre del Sur ( $n = 12$ ) en Oaxaca. Los valores propios con mayor correlación se resaltan en negritas.

Variable	PC 1	PC 2	PC 3
GLS	0.21692	0.1775	0.029333
SKH	0.083684	0.157	-0.11597
CBL	0.24542	0.085564	0.13052
BUL	0.060407	<b>0.35789</b>	<b>0.56801</b>
SBD	0.10926	0.025225	0.091105
DIL	0.26129	0.21297	0.054945
ROH	0.2579	0.20612	-0.2888
BRR	<b>0.35439</b>	-0.12636	<b>-0.39307</b>
PBL	0.24821	0.10273	0.24293
POL	0.27205	0.067463	0.11721
OCL	0.25343	-0.18939	0.23527
MTL	0.19963	-0.34058	0.23337
MTB	0.22033	0.064624	-0.012803
PDB	0.12613	<b>-0.41772</b>	-0.24938
ZYB	<b>0.32038</b>	-0.14592	-0.010961
BAB	0.077701	0.10936	-0.059537
NAL	0.28116	-0.22169	0.064952
IOB	0.15125	<b>0.51735</b>	<b>-0.37821</b>
NAB	<b>0.3082</b>	-0.091247	0.030577



**Figura 12.** Gráfico de influencias obtenido del análisis de componentes principales de las 19 variables craneodentales. Se analizaron tres grupos de individuos de *Peromyscus mexicanus* de distintas regiones geográficas. Las variables con mayor correlación son BRR, ZYB y NAB.



**Figura 13.** Gráfico de puntuaciones obtenido del análisis de componentes principales de 19 medidas craneodentales. Se analizaron tres grupos de individuos de *Peromyscus mexicanus* de distintas regiones geográficas. Los cuadros son individuos de Los Tuxtlas, Veracruz. Los círculos son individuos de La Esperanza, Comaltepec, en las Sierra Madre de Oaxaca. Los triángulos son individuos de tres localidades de la Sierra Madre del Sur, Oaxaca.

## 8. DISCUSIÓN

La sistemática molecular del grupo *Peromyscus mexicanus* ha sido revisada ampliamente. Sin embargo, los estudios previos (Bradley *et al.*, 2007; Ordoñez-Garza *et al.*, 2010; Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez, 2015, Bradley *et al.*, 2016; Lorenzo *et al.*, 2016; Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez, 2017; Álvarez-Castañeda *et al.*, 2019) mostraron que el grupo *mexicanus* está formado por especies crípticas que no habían sido descritas, además sólo han considerado muestras de regiones de Centroamérica y Veracruz, por lo que es de esperarse que en sitios donde no se han llevado a cabo estudios filogenéticos, ni morfológicos, como es Oaxaca, se describan clados separados. Los resultados de los análisis de ejemplares de la SMO y de la SMS, muestran una clara separación de los ejemplares de estas áreas respecto a *P. mexicanus* en el resto de su distribución geográfica. Los clados presentes en Oaxaca también están diferenciados filogenéticamente de las otras especies del grupo *mexicanus*, agrupándose primero con *P. gymnotis* y después con *P. mexicanus*.

La distancia genética entre las especies del grupo *mexicanus* sugieren que la población de *Peromyscus* de la SMO y SMS (Tabla I) forman clados genéticamente distintos al resto de las especies del grupo *mexicanus*, esto es congruente con lo que menciona Bradley y Baker (2001) donde dice que para mamíferos pequeños similares a los *Peromyscus*, valores entre el 2% y 11% son indicativos de especies distintas genéticamente, lo que hace necesario una revisión más completa (utilizando otros genes, por ejemplo) de esas poblaciones.

La distancia genética dentro de la SMO fue de 0.73% y la de la SMS de 0.91% (Tabla II), esto concuerda con lo mencionado por Bradley y Baker (2001), donde indican que una especie tiene una variación genética menor al 2%. Estos valores también son congruentes para el caso de otros grupos de especies como lo es *aztecus* (Sullivan *et al.*, 1997).

La posible explicación para la distancia genética entre los linajes de *Peromyscus* de la SMO y SMS es que estas subprovincias están separadas por las Montañas y Valles de Occidente, la Fosa de Tehuantepec, los Valles Centrales y las Montañas y Valles del Centro. El Río Grande separa la Sierra Juárez del Nudo de Zempoaltépetl y el Río Santo Domingo separa a la Sierra Juárez de la Sierra Mazateca (Ortíz-Pérez *et al.*, 2004; León-Paniagua y

Morrone, 2009). La SMO es una cadena montañosa con diferente altitud respecto a la Selva de Los Tuxtlas, esta última se encuentra en la Planicie Costera del Golfo a una altitud de ~500 msnm, de acuerdo con Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez (2017), la diferencia en altitud puede generar aislamiento genético y especiación. Por otro lado tenemos al Istmo de Tehuantepec, específicamente el Río Tehuantepec, que es una barrera geográfica entre las montañas de la Sierra Madre del Sur de Oaxaca y la Sierra Madre de Chiapas y el resto de Centroamérica, separando a las poblaciones de Centroamérica.

La fragmentación ambiental ocasionada por el ser humano puede ser una barrera geográfica ocasionando cambios en el flujo genético de las especies con baja movilidad a corto, mediano y largo plazo (Asbjorsen *et al.*, 2004). Esta fragmentación del hábitat debido al desarrollo urbano en los Valles Centrales de Oaxaca, por ejemplo, la construcción de carreteras, cambio de uso de suelo y la presencia del Río Salado-Lachiriega, probablemente está limitando el flujo genético de norte a sur en las poblaciones de *P. mexicanus*, facilitando el aislamiento geográfico y la diferenciación en especies válidas.

La SMO y la SMS están prácticamente separadas unas de otras y no presentan conectividad ambiental ya que su origen es, en el caso de la SMO, de la Sierra Madre Oriental y en el caso de la SMS, de la Sierra Madre del Sur (Watson, 2003). Lo que sugeriría que los *P. mexicanus* de la SMS pudieran haber sido de las primeras poblaciones en tener el aislamiento genético. Sin embargo, las reconstrucciones filogenéticas muestran una mayor cercanía entre los *Peromyscus* de la SMO con los *Peromyscus* de Huamelula (este de la SMS a una altitud menor que la SMS), luego de Lachilló (parte media de la SMS) y por último los de Las Flores (parte oeste de la SMS). Esto pone en duda esta hipótesis, por lo que el origen de estos linajes no queda muy claro.

Además de la fragmentación ambiental por causas antropogénicas, existen las causas naturales debido a los cambios climáticos a lo largo del tiempo, para el caso de los bosques de alta montaña. Durante el pleistoceno medio-tardío fue cuando se originaron estos bosques (Watson, 2003) y la diversificación de especies en la región neotropical sucedió en el plio-pleistoceno (Bagley y Johnson, 2014). Durante este periodo, existieron ciclos de glaciares en los que la vegetación con afinidad neártica tuvo expansiones y la vegetación tropical se redujo, por el contrario, en los periodos interglaciares fue al contrario (Toledo,

1982). El grupo *mexicanus*, en especial los linajes que se están analizando en este estudio, pudieran presentar un tiempo de especiación similar al de otros grupos de *Peromyscus* como es el caso de las especies de *P. aztecus* (Sullivan *et al.*, 1997) y *P. melanophrys* (Castañeda-Rico *et al.*, 2014). Sin embargo es necesario realizar un análisis de datación molecular para corroborar esta hipótesis. Lo que pudo separar a las poblaciones del grupo *mexicanus* en México del resto de Centroamérica fue el evento conocido como Óptimo Termal del Plioceno Medio (OTPM). El que debido a las altas temperaturas que presentó aumentó el nivel del océano formando un canal grande en el Istmo de Tehuantepec (Cronin, 2010). Los cambios ambientales debido a los ciclos glaciales durante el Pleistoceno e inicios del Holoceno fueron constantes (Hewitt, 2000), lo que pudo haber sido la causa de la segregación entre la SMO y la SMS.

La localidad donde se recolectaron los *Peromyscus* en la SMO tiene una altitud de 1,569 msnm. Las localidades donde se recolectaron los *Peromyscus* en la SMS están en un intervalo de 352 a 616 msnm. Este factor pudiera ser una barrera ecológica, ya que los individuos de distintas altitudes presentan características ecológicas diferentes (Patton y Smith, 1993). En el caso del grupo *mexicanus* y los de Huamelula, existen diferencias en tamaño corporal entre especies de alta montaña y especies de baja montaña (Pérez-Consuegra y Vázquez-Dominguez, 2015). Los resultados de este trabajo muestran que los *Peromyscus* de la SMO son mayores en medidas somáticas y algunas medidas craneales (Tabla 3). Aparentemente, hay una correlación positiva entre la altitud y el tamaño de los ejemplares. En el caso de los *P. mexicanus* de Veracruz, tienen un tamaño general menor que los de la SMO y SMS. En algunas medidas son mayores a los *Peromyscus* de la SMS, ya que están en una altitud intermedia entre la SMO y la SMS.

## 9. CONCLUSIONES

Los resultados de los análisis filogenéticos obtenidos a partir del gen *Cytb* agrupan a los *Peromyscus* de la SMO y la SMS como clados separados de las otras especies de *P. mexicanus*.

Los porcentajes de distancia genética obtenidas en este estudio, sugieren que las poblaciones de *P. mexicanus* de la Sierra Madre de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur, en Oaxaca, se encuentran filogenéticamente más cercanos con *P. gymnotis* que con *P. mexicanus*, la especie a las que se les ha asignado por sus características morfológicas.

El Istmo de Tehuantepec forma una barrera geográfica que separa al complejo de especies del grupo *mexicanus*. Los *Peromyscus* de la SMO y la SMS tienen una discontinuidad genética con el resto de especies del grupo *mexicanus* de Centro América. Esto puede ser debido a las fluctuaciones paleoclimáticas durante el Pleistoceno-Holoceno, que pudieron originar la segregación en la diversidad de *Peromyscus* de la SMO y la SMS.

Los resultados de variación morfológica y diversidad genética sugieren que las subespecies *P. m. totontepecus*, en la SMO, y *P. m. azulensis*, en la SMS, pueden ser entidades taxonómicas válidas para el nivel de especie. Se propone la implementación de otros genes mitocondriales como Citorcomo Oxidasa subunidad I y III, además de marcadores nucleares como Alcohol Desihidrogenasa (*Adh1-I2*), Beta Fibrinogeno (*Fgb-17*) y Proteína de Unión al Retinoide del Interfotorreceptor (*Rbp3*), para clarificar su estatus. La diferencias entre las dos poblaciones de Oaxaca también es en tamaño, siendo los de la SMO mayores en talla que los de la SMS. Esto pudiera representar una diferencia ecomorfológica para separar especies crípticas.

## 10. LITERATURA CITADA

- Amman, B. R., J. Delton-Hanson, L. K. Longhofer, Steven. R. Hooper y R. D. Bradley. 2006. Intron 2 of the Alcohol Dehydrogenase Gene (*Adh1-I2*): A Nuclear DNA Marker for Mammalian Systematics. Occasional Papers. Texas Tech University. 256.
- Álvarez, T., P. Domínguez y J. Arroyo-Cabrales. 1984. Mamíferos de la Angostura, región central de Chiapas, México. Instituto Nacional de Antropología e Historia. 24: 1-89.
- Álvarez-Castañeda, S.T., C. Lorenzo, C. A. Segura-Trujillo y S.G. Pérez-Consuegra. 2019. Two new species of *Peromyscus* from Chiapas, Mexico, and Guatemala. Pp. 543–558 in From field to laboratory: a memorial volume in honor of Robert J. Baker (R. D. Bradley, H. H. Genoways, D. J. Schmidly, and L. C. Bradley, eds.). Special Publications, Museum of Texas Tech University 71:xi+1–911.
- Álvarez-Castañeda, S. T., T. Álvarez y N. González-Ruiz. 2015. Guía para la identificación de los mamíferos de México en campo y laboratorio. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Asociación Mexicana de Mastozoología A. C. Guadalajara, Jalisco, México.
- Asbjorsen, H., M. S. Ashton, D. J. Vogt y S. Palacios. 2004. Effects of hábitat fragmentation on the buffering capacity of edge environments in a seasonally dry tropical oak forest ecosystem in Oaxaca, Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 103(3): 481-495.
- Ávila-Valle, Z. A., A. Castro-Campillo, L. León-Paniagua, I. H. Salgado-Ugalde, A. N. Navarro-Sigüenza, B. E. Hernández-Baños, y J. Ramírez-Pulido. 2012. Geographic variation and molecular evidence of the Blackish Deer Mouse complex (*Peromyscus furvus*, Rodentia: Muridae). *Mammalian Biology*. 77:166-177.
- Bagley, J. C. y J. B. Johnson. 2014. Phylogeography and Biogeography on the lower Central American Neotropics: diversification between two continents and between two seas. *Biological reviews*. 89(4): 767-790.
- Bedford, N. L. y H. E. Hoekstra. 2015. *Peromyscus* mice as a model for studying natural variation. *eLife*, 4, e06813. <http://doi.org/10.7554/eLife.06813>
- Bradley, R. D., y R. J. Baker. 2001. A test of genetic species concept: cytochrome-*b* sequence and mammals. *Journal of Mammalogy*. 84:960–973.

- Bradley, R. D., N. D. Durish, D. S. Rogers, J. R. Miller, M. D. Engstrom y C. W. Kilpatrick. 2007. Toward a molecular phylogeny for *Peromyscus*: evidence from mitochondrial cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy* 88:1146-1159.
- Bradley, R. D., M. Nuñez-Tabares, T. J. Soniat, S. Kerr, R. W. Raymond y N. Ordóñez-Garza. 2016. Molecular Systematics and Phylogeography of *Peromyscus nudipes* (Cricetidae: Neotominae). Special Publications. Museum of Texas Tech University. 65:201-213.
- Briones-Salas, M. Á., M. Cortés-Marcial y M. C. Lavariega. 2015. Diversidad y distribución geográfica de los mamíferos terrestres del estado de Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 86 (3). 685-710. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2015.07.008>
- Briones-Salas, M. Á., M. C. Lavariega-Nolasco, M. Cortés-Marcial, A. G. Monroy-Gamboa y C. A. Masés-García. 2016. Iniciativas de conservación para los mamíferos de Oaxaca, México. Pp. 329-366 en *Riqueza y Conservación de los Mamíferos en México a Nivel Estatal* (Briones-Salas, M., Y. Hortelano-Moncada, G. Magaña-Cota, G. Sánchez-Rojas y J. E. Sosa-Escalante, eds.). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Asociación Mexicana de Mastozoología A. C. y Universidad de Guanajuato, Ciudad de México, México.
- Bryson Jr, R. W., R. W. Murphy, A. Lathrop y D. Lazcano-Villareal. 2010. Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography* 38, 697-710.
- Cañón, C., G. D'Elía, U. F. J. Pardiñas y E. P. Lessa. 2010. Phylogeography of *Loxodontomys micropus* with comments on the alpha taxonomy of *Loxodontomys* (Cricetidae: Sigmodontinae). *Journal of Mammalogy*. 91(6):1449-1458.
- Carleton, M. D. 1989. Advances in the study of *Peromyscus* (Rodentia)(G. L. Kirkland y J. N. Layne, eds.). *Systematics and Evolution*. Texas Tech University Press, Lubbock. Pp. 7-141.
- Castañeda-Rico, S., L. León-Paniagua, E. Vázquez-Dominguez y A. G. Navarro-Sigüenza. 2014. Evolutionary diversification and speciation in rodents of Mexican lowlands: The

- Peromyscus melanophrys* species group. *Molecular Systematics and Evolution*. 70:454-463.
- Cornejo-Latorre, C., P. Cortés-Calva, y S. T. Álvarez-Castañeda. 2017. The evolutionary history of the subgenus *Haplomylomys* (Cricetidae: *Peromyscus*). *Journal of Mammalogy*. 98(6):1627–1640.
- Cronin, T. M. 2010. *Paleoclimates, understanding climate change past and present*. Columbia University Press, New York.
- Dixo, M., J. P. Metzger, J. S. Morgante y K. R. Zamudio. 2009. Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad population in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*. 1560-1569.
- García-Mendoza, A. y C. Torres. 1999. Estado actual del conocimiento sobre la flora de Oaxaca. *Sociedad y naturaleza en Oaxaca*. 3:49-86.
- García-Mendoza, A. J., M. J. Ordóñez y M. Briones-Salas (Eds.) 2004. Biodiversidad de Oaxaca. (pp. 67–85). México, D.F.: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Found.
- Giraldo, H. P. A., S. S. I. Uribe y R. A. López. 2011. Análisis de secuencias de ADN mitocondrial (Cyt *b* y ND1) en *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), 273-278.
- Godínez, E. G. y S. Guerrero. 2014. Los roedores de Jalisco, México: clave de determinación. *Therya*. Vol.5(2): 633-678.
- Graham, R.W. 1986. Response of mammalian communities to environmental changes during the late Quaternary. In: Diamond, J., Case, T.J. (Eds.), *Community Ecology*. Harper and Row, New York, pp. 300–313.
- Graham, R. W., E. L. Lundelius Jr, M. A. Graham, E. K. Schoroeder, R. S. Toomey III, E. Anderson, A. D. Barnosky, J. A. Burns, C. S. Churcher, D. K. Grayson, R. D. Guthrie, C. R. Harington, G. T. Jefferson, L. D. Martin. H. G. McDonald, R. E. Morlan, H. A. Semken Jr, S. D. Webb, L. Werdelin y M. C. Wilson. 1996. Spatial Response of Mammals to Late Quaternary Environmental Fluctuations. *Science, New Series*. 272:5268 1601-1606.

- Hall, E. R. 1981. The mammals of North America. Second edition. John Wiley and Sons. New York, U.S.A.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper y P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4:1-9. Available from: [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- Harris, D., D. S. Rogers y J. Sullivan, J. 2000. Phylogeography of *Peromyscus furvus* (Rodentia; Muridae) based on cytochrome *b* data. *Molecular Ecology*. 9, 2129-2135.
- Hedin, M., D. Carlson y F. Coyle. 2015. Sky island diversification meets the multispecies coalescent – divergence in the spruce-fir moss spider (*Microhexura montivaga*, Araneae, Mygalomorphae) on the highest peaks of southern Appalachia. *Mol. Ecol.* 24: 3467-3484. doi:[10.1111/mec.13248](https://doi.org/10.1111/mec.13248).
- Hewitt, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907-913.
- Huckaby, D. G. 1973. Biosystematics of the *Peromyscus mexicanus* group (Rodentia). Tesis de Doctorado. Universidad de Michigan.
- Huckaby, D. G. 1980. Species limits in the *Peromyscus mexicanus* group (Mammalia: Rodentia: Muroidea). *Contributions in Science, Natural History Museum of Los Angeles County* 326:1–24.
- Inegi. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2011). Provincias fisiográficas. Disponible en: <http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/prodyserv/atlas/pfisiog.cfm>. Consultado el 7 de abril de 2018.
- Jiménez P. y C. Collada. 2000. Técnicas para la Evaluación de la Diversidad Genética y su uso en los Programas de Conservación. *Invest. Agr.: Sist. Recur. For.: Fuera de Serie* n.º 2
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz y K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35:1547-1549.
- León-Paniagua, L. y J. J. Morrone. 2009. Do the Oaxacan Highlands represent a natural biotic unit? A cladistic biogeographical test based on vertebrate taxa. *Journal of Biogeography*. 36: 1939–1944. doi:[10.1111/j.1365-2699.2009.02134.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02134.x).

- Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25, 1451–1452.
- Lino, A., C. Fonseca, D. Rojas, E. Fishcer y M. J. Ramos-Pereira. 2018. A meta-analysis of the effects of habitat loss and fragmentation on genetic diversity in mammals. *Mammalian Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2018.09.006>.
- Lorenzo, C., S. T. Álvarez-Castañeda, S. G. Pérez-Consuegra y S. L. Patton. 2016. Revision of the Chiapan deer mouse, *Peromyscus zarhynchus*, with the description of a new species. *Journal of Mammalogy*. 97(3):910-918.
- McCormack, J. E., H. Huang y L. L. Knowles. 2009. Sky Islands. *University of Michigan*. 839-843.
- Minitab 19 Statistical Software 2010. [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc. (www.minitab.com)
- Monroy-Gamboa, A. G., A. Ureña-Ramón y L. A. Espinosa-Ávila. 2005. Variación morfológica de *Peromyscus maniculatus fulvus* y *Reithrodontomys megalotis saturatus* de la Ciudad de México, D. F. *Revista Mexicana de Mastozoología* 9:72-84.
- Musser, G. G. y M. D. Carleton. 2005. *Peromyscus*. In: Wilson DE, Reeder DM, editors. *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd edition, Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. y Ken, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 403, 853–858.
- Ordoñez-Garza, N., J. O. Matson, R. E. Strauss, R. D. Bradley y J. Salazar-Bravo. 2010. Patterns of phenotypic and genetic variation in three species of endemic Mesoamerican *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy*. 91:848-859.
- Ortiz-Pérez, M. A., J. R. Hernández-Santana y J. M. Figueroa-Mah-Eng. 2004. Reconocimiento fisiográfico y geomorfológico. En A. J. García-Mendoza, M. J. Ordóñez y M. Briones-Salas (Eds.) 2004. *Biodiversidad de Oaxaca*. (pp. 67–85). México, D.F.: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Found.
- Osgood, W. H. 1909. Revision of the mice of the American genus *Peromyscus*. *North American Fauna*. 28:1-285.

- Patton, J.L. y M. F. Smith. 1992. MtDNA phylogeny of Andean mice: a test of diversification across ecological gradients. *Evolution*. 46(1): 174-183.
- Pérez-Consuegra, S. G. y E. Vázquez-Dominguez. 2015. Mitochondrial diversification of the *Peromyscus mexicanus* species group in Nuclear Central America: biogeographic and taxonomic implications. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 53(4), 300-311.
- Pérez-Consuegra, S. G. y E. Vázquez-Dominguez. 2017. Intricate evolutionary histories in montan especies: a phylogenetic window into craniodental discrimination in the *Peromyscus mexicanus* species group (Mammalia: Rodentia: Cricetidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 55(1), 57-72.
- Rambaut, A. 2012. FigTree v1.4.2. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rickart E. A. y P. B. Robertson. 1985. *Peromyscus melanocarpus* Mammalian species. 241:1-3pp.
- Rogers, D. S. y M. D. Engstrom. 1992. Evolutionary implications of allozymic variation in tropical *Peromyscus* of the *mexicanus* group. *Journal of Mammalogy*. 73(1):55-69.
- Rogers, D.S., C. C. Funk, J. R. Miller y M. D. Engstrom. 2007. Molecular Phylogenetic Relationships Among Crested-tailed Mice (Genus *Habromys*). *Journal of Mammalian Evolution*. 14 (1). 37-55
- Rogers, D. S., J. Sullivan y E. Arellano. 2000. Phylogeography of Mesoamerican Highland Rodents: Concerted versus Independent Response to Past Climatic Fluctuations. *The American Naturalist*. 155, 755-768.
- Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- Rovito, S. M. 2010. Lineage divergence and speciation in the Web-toed Salamanders (Plethodontidae: *Hydromantes*) of the Sierra Nevada, California. *Molecular Ecology*. 19, 4554-4557.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, y T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, New York, USA. 1626p.
- Santos-Moreno, A. 2014. Los Mamíferos del Estado de Oaxaca. *Revista Mexicana de Mastozoología*. Nueva Época. 4, 18-32.

- Saussure, M. H. 1860. Note sur quelques mamíferes du mexique. *Revue et Magazine Zoologie*, Paris, Serie 2 12:103-105.
- Sawyer, Y. E., M. J. Flamme, T. S. Jung, S. O. MacDonald y J. A. Cook. 2017. Diversification of deermice (Rodentia: genus *Peromyscus*) at their north-western range limit: genetic consequences of refugial and island isolation. *Journal of Biogeography*. 44, 7. 1572-1585.
- Sikes, R. S., y The Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2016. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of Mammalogy*. 97:663–688.
- Smith S. A., R. D. Bradley y I. F. Greenbaum. 1986. Karyotypic conservatism in the *Peromyscus mexicanus* group. *Journal of Mammalogy*. 67(3):584-86.
- Smith, M. F. 1998. Phylogenetic relationships and geographic structure in pocket gophers in the genus *Thomomys*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9:1–14.
- Smith, M. F. y J. L. Patton. 1999. Phylogenetic relationships and the radiation of sigmodontine rodents in South America: evidence from cytochrome *b*. *Journal of Mammalian Evolution*. 6, 2. 89-128.
- StatSoft, Inc. 2007. STATISTICA (data analysis software system), versión 8.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Sullivan, J., J. A. Markert y C. William- Kilpatrick. 1997. Phylogeography and molecular systematics of the *Peromyscus aztecus* species group (Rodentia: Muridae) inferred using parsimony and likelihood. *Society of Systematic Biologists*. Oxford University Press. Vol. 46, No. 3. pp. 426-440.
- Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. P. 57-86 in *Some mathematical questions in biology – DNA sequence analysis* (R. M. Miura, ed.). American Mathematics Society, Providence, Rhode Island.
- Tiemann-Boege, I., C. William-Patrick, D. J. Schmidly y R. D. Bradley. 2000. Molecular Phylogenetics of the *Peromyscus boylii* Species Group (Rodentia: Muridae) Based on Mitochondrial Cytochrome *b* Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Vol. 16, No. 3, pp. 366–378.

- Toledo, V. M. 1982. Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. Biological diversification in the tropics (ed. by G.T. Prance). pp. 93–111. Columbia University Press, New York.
- Toro, I. M., G. Martínez y I. Suazo. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*. 28(4): 977-990.
- Trejo, I. 2004. Clima. En A. J. García-Mendoza, M. J. Ordóñez y M. Briones-Salas (Eds.), *Biodiversidad de Oaxaca*. (pp. 67–85). México, D.F.: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Found.
- Trujano-Álvarez A. L. y S. T. Álvarez-Castañeda. 2010. *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Cricetidae). *Mammalian Species*. American Society of Mammalogists. 42(858):111-118.
- Watson, D. M. 2003. Long-term consequences of habitat fragmentation — highland birds in Oaxaca, Mexico. *Biological Conservation*. 111(3): 283-303.
- Williams, S. L. y J. Ramírez-Pulido. 1984. Morphometric variation in the volcano mouse, *Peromyscus (Neotomodon) alstoni* (Mammalia: Cricetidae). *Annals of Carnegie Museum* 53:163–183.

## 11. ANEXOS

**Anexo 1.** Ejemplares utilizados para realizar el análisis filogenético de *Peromyscus mexicanus*. Se incluye la localidad de colecta con las coordenadas geográficas, el número de individuos por localidad (N), el número de catálogo y la colección científica a la que pertenece cada ejemplar, el linaje al que pertenece cada ejemplar y el número de accesión de GenBank.

Localidad	lat	long	N	No. catálogo	Linaje	GenBank
OAXACA: La Esperanza, Comaltepec, 10 km S, 5 km W Valle Nacional, 1569 m	17.63073	-96.35911	14	CIB28987	<i>mexicanus</i> SMO	-
				CIB28988		
				CIB28990		
				CIB28992		
				CIB28993		
				CIB28994		
				CIB28995		
				CIB28996		
				CIB28998		
				CIB29000		
				CIB29002		
				CIB29004		
				CIB29128		
				CIB29129		
OAXACA: 0.62 km NE, San José de las Flores, 616 m	16.4	-97.73	1	CIB29964	<i>mexicanus</i> SMS A	-
OAXACA: 0.5 km W, San Felipe Lachilló, 897 m	16	-96.15	2	CIB29948 CIB29953	<i>mexicanus</i> SMS B	-
OAXACA: 0.5 km N, San Francisco Huamelula, 352 m	16.1	-95.61	5	CIB29940 CIB29942 CIB29943 CIB29944 CIB29945	<i>mexicanus</i> SMS C	
CHIAPAS: 21 km SE Mapastepec	-	-	1	AK6027	<i>gymnotis</i>	EF028170

GUATEMALA: Finca Jurun (Montaña El Chilar), Palin, Escuintla, 996 m	14.356	.90.727	1	USAC5056	<i>gymnotis</i>	KP284388
GUATEMALA: Finca Los Andes, Patutul, Suchitepequez, 1566 m	14.549	-91.181	1	USAC5334	<i>gymnotis</i>	KP284389
GUATEMALA: Huehuetenango, Finca Ixcansán, 10.3 km al este (por carretera) Aldea Yalambojoch, San Mateo Ixtatán	-	-	1	USAC4792	<i>gardneri</i>	KT207328
GUATEMALA: Huehuetenango, Nentón, 2.8 km al Sur (por carretera) Aldea Yalambojoch	-	-	2	USAC4746 USAC4756	<i>gardneri</i>	KU292362 KU292363
VERACRUZ: Manuel Gutiérrez Nájera, Misantla, 878 m	19.792	-96.86	2	MZFC11178 MZFC11177	<i>mexicanus</i>	KP284422 KP284423
HIDALGO: Puente del Río Camarones, Tutotepeq, 1130 m	20.391	-98.223	1	MZFC8995	<i>mexicanus</i>	KP284424
-	-	-	1	M36	<i>mexicanus</i>	KJ526415
VERACRUZ: 10 km SE (por carretera) Zongolica, 1850m	-	-	1	CNMA34309	<i>mexicanus</i>	EF028174

GUATEMALA: Huehuetenango, 22 km NNE Chiantla, Laguna Magdalena	-	-	3	USNM109063 USNM109066 USNM109068	<i>guatemalensis</i>	GQ461933 GQ461934 GQ461935
GUATEMALA: Alta Verapaz; Tucurú, Finca Concepción	-	-	3	USNM570119 USNM570120 USNM570121	<i>grandis</i>	GQ461923 GQ461924 GQ461925
GUATEMALA: Volcán Suchitán, 4.8 km S, 4 km W Sta. Catarina Mita, Jutiapa, 1891 m	14.404	-89.781	3	USAC5368 USAC5383 USAC5345	<i>salvadorensis</i>	KP284406 KP284407 KP284408
NICARAGUA: Posada Tisey, Área Protegida Tisey-Estanzuela, Depto. Estelí, 1580 m	12.985	-86.37	1	UNAN001	<i>nicaraguae</i>	KP284313
NICARAGUA: Matagalpa, Selva Negra			1		<i>nicaraguae</i>	KX998950
COSTA RICA: Puntarenas, Estación Biológica Monte Verde			1		<i>nicaraguae</i>	KX998931
GUATEMALA: 1.3 km NE Las Torres, Cerro San Gil, Depto. Izabal, 810 m	15.666	-88.683	2	CM117024 CM117025	<i>tropicalis</i>	KP284307 KP284308
PANAMA: Chiriqui; Bugaba, Parque Internacional La Amistad, Estación de	-	-	2	MSB262229 MSM262207	<i>nudipes</i>	KX998928 KX998929

Guardabosques  
Las Nubes

COSTA RICA: Cartago; Cerro de la Muerte, San Gerardo del Dota	-	-	1	ROM113216	<i>nudipes</i>	EF989992
CHIAPAS: Cerro La Ventana, 2 km W Tapalapa, 2,225 m	-	-	1	ECOSUR1448	<i>zarhynchus</i>	KT207343
CHIAPAS: Ejido Tehuacán, 2 Km E Tumbalá	-	-	1	ECOSUR3004	<i>zarhynchus</i>	KT207344
CHIAPAS: Las Grutas. PN Lagos de Montebello, 3.45 km N El Vivero, 1,513 m	-	-	1	ECOSUR1215	<i>zarhynchus</i>	KT207345

---

Acrónimos de la Colecciones Científicas: CIB=Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México; USAC=Colección de Mamíferos del Museo de Historia Natural de la Universidad de San Carlos, Guatemala; MZFC=Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias UNAM, Ciudad de México, México; Colección Nacional de Mamíferos, UNAM, Ciudad de México, México; USNM=United States National Museum, Washington D.C., Estados Unidos; UNAN=Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua; TTU= Museum of Texas Tech University, Lubbock, Texas, Estados Unidos; CM=Carnegie Museum of Natural History, Pittsburgh, Pennsylvania, Estados Unidos; MSB=Museum of Southwestern Biology, Albuquerque, Nuevo México, Estados Unidos; ROM=Royal Ontario Museum, Toronto, Canadá; ECOSUR= Colección Mastozoológica de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.

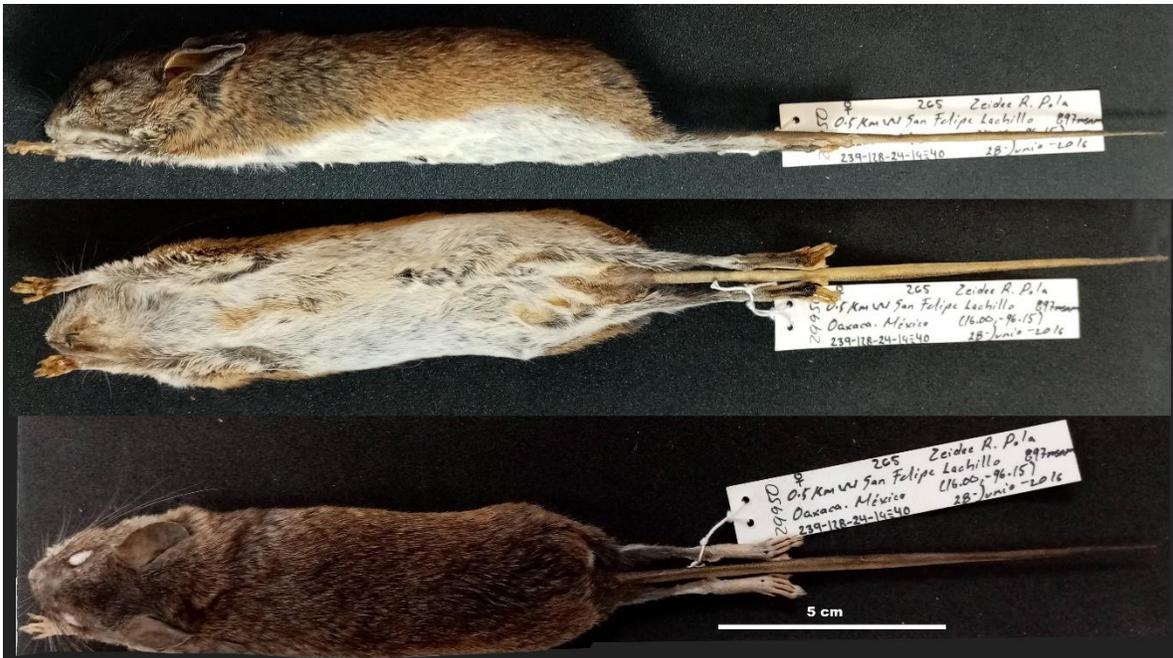
**Anexo 2.** Fotografías de los ejemplares de *Peromyscus* recolectados en la SMO, en las 3 localidades de la SMS.



**Figura 14.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en La Esperanza, Comaltepec, 10 km S, 5 km W de Valle Nacional, Oaxaca, 1569 msnm.



**Figura 15.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.62 km NE de San José de las Flores, Oaxaca, 616 msnm.



**Figura 16.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.5 km W de San Felipe Lachilló, Oaxaca, 897 msnm.



**Figura 17.** Vista dorsal, ventral y lateral del ejemplar de *Peromyscus* recolectado en 0.5 km N, 0.5 km E de San Francisco Huamelula, Oaxaca, 352 msnm.