



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
ECOLOGÍA

**“DIVERSIDAD GENÉTICA Y PATRONES ECOLÓGICOS DE HABROMYS
SCHMIDLYI”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

PABLO FRANCISCO COLUNGA SALAS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LIVIA LEÓN PANIAGUA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. ELLA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. VERÓNICA FARÍAS GONZÁLEZ

FES IZTACALA, UNAM

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.
DICIEMBRE, 2016**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Tupí or not tupí, that is the question.

“Manifesto antropofágico”

Oswald de Andrade

Brasil, 1928

A toda mi amada familia

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios de mi país, la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, por permitirme seguir creciendo académica y personalmente.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, por recibirme en mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico que me brindó durante los dos años de maestría.

A la ayuda financiera del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM, a través del proyecto IN-216713 “Revisión del estado sistemático y biogeográfico de los roedores peromíscinos del grupo “megalops” (*Peromyscus megalops*, *P. melanurus* y *P. melanocarpus* y de *Osgoodomys banderanus*) a partir de los genes mitocondriales ND3, ND4 y el nuclear GHR” a cargo de la Dra. Livia León Paniagua.

A mi tutora de tesis, la Dra. Livia León Paniagua, por su apoyo y cariño incondicional durante mi vida académica en la UNAM. Asimismo, por su guía y dirección durante la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Ella Vázquez Domínguez, por su apoyo incondicional durante estos años y por siempre tener abiertas las puertas de su laboratorio para cualquier duda académica y personal, las cuales, sin duda, enriquecieron el proyecto de manera integral. De igual forma, por las alícuotas de los oligonucleótidos para los experimentos iniciales de este proyecto.

A la Dra. Verónica Farías González, por sus atenciones, sugerencias y aportaciones que ayudaron a enriquecer este trabajo.

A la Dra. Ingeborg Becker, del Centro de Medicina Tropical, por abrirme las puertas de su laboratorio para los análisis moleculares iniciales.

A la Dra. Miriam Berzunza Cruz, del Centro de Medicina Tropical, por su ayuda y apoyo técnico en el laboratorio de biología molecular durante los análisis iniciales.

Al Biol. Daniel Sokani Sánchez Montes, del Centro de Medicina Tropical, por su ayuda en la estandarización, guía y ayuda durante el trabajo de laboratorio.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis papás, Bertha Salas Blas y Paulo Colunga Martínez, por su amor y apoyo incondicional durante estos 26 años, pero también por enseñarme a ser mejor persona y nunca dejarme caer. LOS AMO!!

A mi hermano, Luis Daniel Colunga Salas, por ser un gran amigo y confidente y por todos esos momentos de risa y enojo. Te AMO!!

A Wallace, por su amor y cariño, por esas noches de trabajo en las cuales nunca me abandonó y siempre estuvo a mi lado.

A Tania Marines, porque hemos estado juntos desde el inicio de esta travesía, por esos viajes de gran aprendizaje, tanto en México, como en el extranjero. Te AMO!!!

A Sokani, Estefanía y Lucía, por siempre apoyarme en cuestiones personales y académicas, por sus revisiones a este trabajo y su amor. Pero sobretodo porque durante este último año y medio, me han ayudado a crecer personal y académicamente LOS AMO MIL!!!

A Samantha Contreras, Marco Ornelas, Carlos Cervantes y Laura Díaz por su amor, cariño y apoyo en mis momentos de estrés y diversión.

A mis amados primos Lety Ortega, Migue Salas y Héctor Ortega, por siempre tener una fiesta y un abrazo cuando lo necesito.

A mis compañeros del laboratorio de MASTOZOLOGÍA de la Facultad de Ciencias, UNAM, por su apoyo y los grandes momentos que hemos pasado en salidas de campo y en el trabajo de laboratorio.

A mis nuevos amigos y compañeros del Hospital General, Javier, Yecenia, Yoko, Kevin, Mario y Melisa por hacer más amenos mis momentos de trabajo y siempre estar dispuestos a ir por un rico helado!

Al “Laboratorio de Jeremy” de la Universidad de Cornell, Nueva York: Jeremy B. Searle, Cassandra Ramírez, Soraia Barbosa, Heidi Eager and Nick Fletcher por su cálido recibimiento y gran ayuda en los análisis de diversidad genética.

A la Dra. Jesica Pérez Aquicira, la Dra. Tania Garrido Garduño, el M. en C. Alejandro Flores Manzanero y a la Biól. Madisson Luna, por su ayuda y apoyo en los análisis de diversidad genética.

Índice de Contenido

Resumen	1
Abstract	3
Introducción	5
Capítulo I. The effect of fragmentation of cloud forest in genetic diversity: the case of <i>Habromys schmidlyi</i> (Rodentia: Cricetidae) an arboreal and endemic rodent in Mexico	10
Abstract	11
Introduction	12
Material and Methods	14
Results	17
Discussion	19
Literature Cited	22
Supplementary information	28
Tissue DNA protocol	28
R scripts used by genetic diversity parameters	30
Capítulo II. Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest	31
Manuscript Draft	31
Abstract	33
Introduction	34
Materials and methods	35

Results	38
Discussion	40
Acknowledgements	44
References	45
Capítulo III. Evaluación de riesgo de extinción de <i>Habromys schmidlyi</i> de acuerdo al numeral 5.7 de la NOM-059-SEMARNAT-2010	57
Datos generales del responsable de la propuesta	57
Nombre científico válido citando la autoridad taxonómica	57
Motivo de la propuesta	57
MER	58
<i>Criterio A.</i> Amplitud de la distribución del taxón en México	58
<i>Criterio B.</i> Estado del hábitat con respecto al desarrollo natural del taxón.....	60
<i>Criterio C.</i> Vulnerabilidad biológica intrínseca del taxón.....	62
<i>Criterio D.</i> Impacto de la actividad humana sobre el taxón.....	63
Valor asignado total del <i>MER</i>	64
Relevancia de la especie	65
Propuesta de medidas de seguimiento	65
Bibliografía	66
Resumen	67
Discusión General	69
Conclusiones Generales	71
Literatura Citada	71

RESUMEN

El bosque mesófilo es el ecosistema más amenazado y con menor extensión territorial en el mundo. *Habromys schmidlyi* es un roedor asociado con este bioma y de hábitos estrictamente arborícolas. Dada la distribución sumamente restringida y la rareza de esta especie, el objetivo principal de este trabajo fue determinar el estado genético de las poblaciones de *H. schmidlyi* basado en la caracterización de aspectos ecológicos que influyen en su distribución espacial y temporal, estimación del ámbito hogareño y evaluación del estado de conservación conforme a los lineamientos de la MER. Para ello, se llevaron a cabo muestreos en las dos poblaciones de *H. schmidlyi*, los parques estatales “Cerro el Huixteco” y “Picacho de Oro y Plata”.

Diversidad genética.- Se construyó una librería genómica utilizando *PstI* como enzima de restricción. La obtención de SNPs, se realizó mediante la fuente de información *UNEAK*. Se realizaron análisis estadísticos para evaluar el estado genético entre y dentro de las poblaciones. Se obtuvo un total de 4007 SNPs mediante los cuales se evaluó la estructura genética, los cuales muestran una disminución en la heterocigosidad, baja variabilidad interpoblacional y una clara diferenciación entre poblaciones y nula migración entre poblaciones. Todo ello como un posible resultado del ambiente heterogéneo y aislamiento por distancia.

Ámbito hogareño.- Se equiparon individuos con radiotransmisores. El ámbito hogareño se calculó mediante la Función de Kernel. En Zacualpan, el ámbito hogareño promedio de machos y de hembras fue de 0.91 acres. No se encontraron diferencias significativas entre sexos ni entre etapas reproductivas. Existió sobreposición en los ámbitos hogareños de los individuos que se encontraron en la misma área. Los animales presentaron un núcleo de actividad pequeño, un promedio tres árboles en sus movimientos y con una estructura social gregaria.

Estado de conservación.- Dada la distribución sumamente restringida (0.012% de territorio nacional), alta tasa de fragmentación, deforestación, aislamiento de los parches de bosque mesófilo, así como la baja diversidad genética, ámbito hogareño reducido y hábitos estrictamente arborícolas, el método de evaluación de riesgo (MER) le otorga un valor de 13 puntos, con lo cual *H. schmidlyi* debe ser considerada como una especie en peligro de extinción.

Estos resultados resaltan la importancia de mantener y conservar las poblaciones de *H. schmidlyi* dada su importancia como fuentes únicas de diversidad genética, debido a su pequeño ámbito hogareño y su nula migración entre poblaciones. Ante esta situación, debe considerarse un plan de conservación dirigido hacia los últimos parches de bosque mesófilo en los cuales se distribuye esta especie de ratón y funge como dispersor de semillas de especies clave.

ABSTRACT

Cloud forest is the most threatened and with less area ecosystem in the world. *Habromys schmidlyi* is a rodent associated with this biome, strictly arboreal and listed as critically endangered by the IUCN. Given the extremely limited distribution of *H. schmidlyi*, the main objective of this work was to determine the genetic diversity of both unique populations of *H. schmidlyi* based on 1) characterization of ecological aspects influencing their spatial and temporal distribution, 2) estimate of home range, and 3) assessment of the conservation status according to the guidelines of the MER. For this purpose, a sampling was conducted the State Park "Cerro el Huixteco" and "Picacho Gold and Silver".

Genetic diversity.- a genomic library was constructed using PstI restriction enzyme. SNPs obtaintion, was performed by UNEAK pipeline. Statistical analyzes were performed to assess the genetic status among and within populations. A total of 4007 SNPs were obtained, by which gentic structure was evaluated. These results show a los of heterozycigosity, low intra-population variability, clear differentiation between populations and no migration between populations. Both as a possible result of heterogeneous environment and isolation by distance.

Home-range.- individuals with radio-transmitters, were radio-located using a three-elements Yagi antenna and a receiver. Home-range was calculated using the Kernel function. In Zacualpan, the average home range of males and females was 0.91 ac. and no significant differences between sexes or between reproductive stages were found. All home-ranges per site were overlapped. The animals showed a small core activity, an average of three trees in their movements and a social structure.

Conservation.- Given the highly restricted distribution (0.012% of national territory), high rate of fragmentation, deforestation, isolation of cloud forest's patches, low genetic diversity, small home range and strictly arboreal habits, evaluation method risk (MER) gives a value of 13 points, by which *H. schmidlyi* should be considered as endangered species.

These results highlight the importance of maintaining and conserving populations of *H. schmidlyi* given its importance as unique sources of genetic diversity, because of their small home range and no migration between populations. In this situation, it should be considered a conservation plan directed towards the latest patches of cloud forest in which this kind of mouse is distributed and where it serves as seed disperser of key species.

INTRODUCCIÓN

El bosque mesófilo (bmm) es el ecosistema más amenazado y con menor extensión territorial en el mundo (Rzedowsky 1978, 1996; CONABIO 2010; Ruíz-Jiménez et al. 2012, Aranda et al. 2012). En México, el bmm tiene una distribución sumamente restringida, siendo el estimado más alentador el propuesto por Rzedowsky (1996) de únicamente el 1% de la superficie total del Territorio Nacional. Sin embargo, las estimaciones más actuales y más realistas mencionan que la extensión de este ecosistema es menor al 0.5% del Territorio Nacional y se encuentra distribuido en parches menores a 80 km² (Figura 1; Martínez et al. 2009; López-Pérez et al. 2011; SEMARNAT 2012).

A pesar de ser un ecosistema altamente amenazado, el bmm es el ecosistema que cuenta con la mayor diversidad de especies de flora y fauna en relación a su área de distribución sumamente restringida (Rzedowsky 1978, 1996; Challenger, 1998; Ceballos y Gisselle 2005; Pérez-Lustre et al. 2006; Beltrán-Sánchez 2009; CONABIO 2010; Aranda et al. 2012).

Dentro de los mamíferos presentes en el bosque mesófilo, el género *Habromys* resalta como un grupo restringido y endémico a los parches de este tipo de vegetación (Carleton 1989, Carleton et al. 2002; León-Paniagua et al. 2007; Castañeda-Rico et al. 2011). El género incluye siete especies reconocidas: *H. simulatus*, *H. delicatulus*, *H. schmidlyi*, *H. chinanteco*, *H. ixtlani*, *H. lepturus* y *H. lophurus* (Figura 1; Romo-Vázquez et al. 2005; León-Paniagua et al. 2007). Todas las especies, a excepción de *H. lophurus* presentan una distribución sumamente restringida, entre uno y dos parches de bmm (León-Paniagua et al., 2007). Además, se han registrado, en su mayoría, como especies raras en sus zonas de distribución (Carleton et al. 2002; Romo-Vázquez et al. 2005, León-Paniagua et al. 2007).

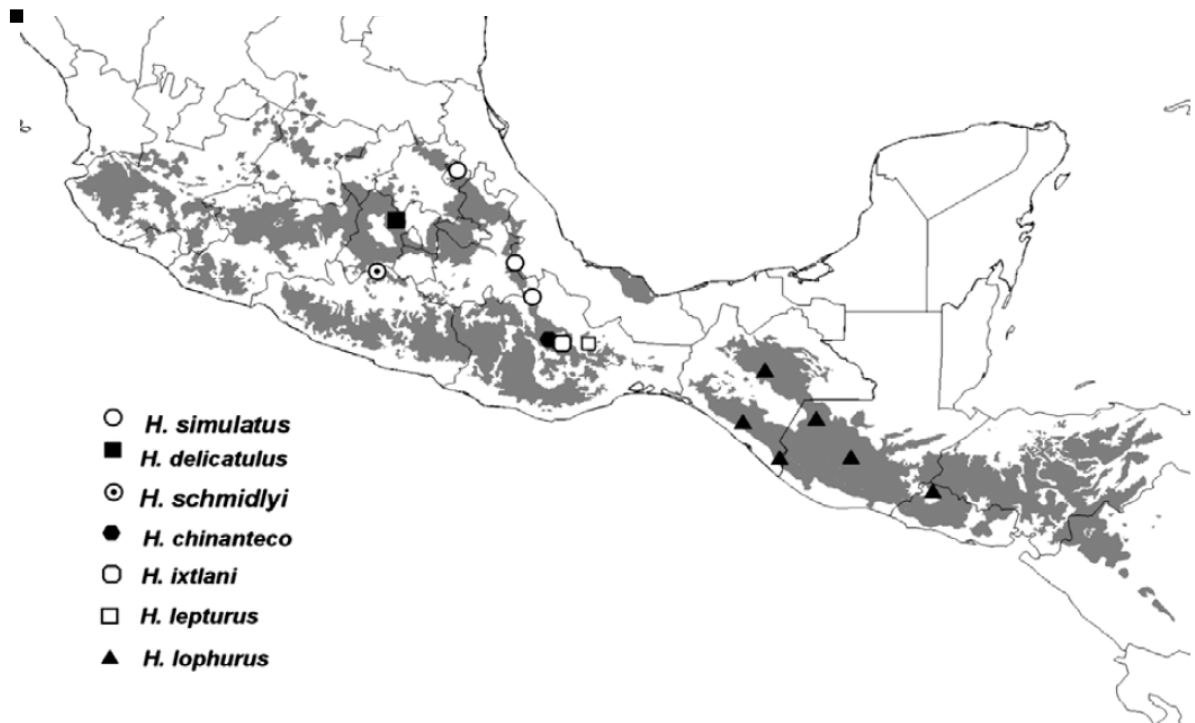


Figura 1. Distribución geográfica de las especies de *Habromys* en México. En gris se representa la distribución del bosque mesófilo en México de acuerdo con las ecoregiones de la WWF. Tomado de León-Paniagua et al. 2007.

H. schmidlyi es una especie recientemente descrita, asociada al bosque mesófilo y con hábitos arborícolas (Romo-Vázquez et al. 2005; León-Paniagua, 2007; Colunga-Salas 2014). De todos los estudios que toman a *H. schmidlyi* como objeto de estudio, únicamente el de Marines-Macías et al. (*enviado*) es de índole ecológico, sin embargo, no existe ningún estudio que evalúe la situación genética de la especie. En cuestión de conservación, *H. schmidlyi* sólo se encuentra en alguna categoría de protección especial (peligro crítico) por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) (Álvarez-Castañeda et al. 2008).

Uno de los efectos negativos que presentan las especies raras con distribuciones restringidas es la disminución de la diversidad genética debido al pequeño tamaño efectivo de la población (N_e), la posible baja conectividad inter poblacional y endogamia (Van de Zande et al. 2000; Ruíz-García 2001; Johansson

et al. 2007; Castañeda-Rico 2008; Dixo et al. 2009). Estos eventos se caracterizan por hacer perder los niveles de heterocigosis (H_E) en las poblaciones. La deriva génica, además, fija alelos haciendo que la diversidad genética disminuya (Ruíz-García 2001; Vega et al. 2007; Vázquez-Domínguez et al. 2009). Lo cual, en su conjunto, aumenta su probabilidad de extinción (Davidson et al. 2009; Ruíz-García 2001; Mace et al. 2005; Allendorf et al. 2012; Arenas et al. 2014).

La diversidad genética es uno de los parámetros más utilizados para estimar el estado genético de especies naturales, dentro y/o entre poblaciones (Avice 1998; Hamilton 2009; Dixo et al. 2009; Arenas et al. 2014). La diversidad genética está determinada principalmente por el número de genes polimórficos (con más de un alelo), número de alelos por gen polimórfico, heterocigocidad, alelos exclusivos, número efectivo de alelos, SNP's (polimorfismos de nucleótidos simple, por sus siglas en inglés), interacciones entre las fuerzas evolutivas y el tiempo desde el establecimiento de la población (Cavalli-Sforza y Bodmer 1981; Kirchman et al. 2000; Mace et al. 2005; Vázquez-Domínguez et al. 2009; Gasca-Pineda et al. 2013; Forcada y Hoffman 2014). La diversidad genética se refleja entre los individuos de distintas maneras, desde las secuencias de ADN y proteínas, hasta en rasgos de comportamiento y morfológicos (Mace et al. 2005).

La diversidad genética se ve afectada por factores externos a los individuos como la heterogeneidad del hábitat, fragmentación del hábitat, aislamiento por distancia, fluctuaciones en las densidades poblacionales y patrones de dispersión (Mace et al. 2005; Dixo et al. 2009; Vázquez-Domínguez et al. 2009; Gasca-Pineda et al. 2013, Arenas et al. 2014).

Además de los factores externos, la diversidad genética depende de factores inherentes a los individuos y a las poblaciones tales como el sistema de apareamiento, tamaño poblacional, tasa de migración, historia evolutiva, metabolismo y ámbito hogareño (Castañeda-Rico, 2008; Dixo et al. 2009; Hamilton 2009; Vázquez-Domínguez et al. 2009; Ceballos et al. 2010; Gasca-Pineda et al. 2013; Arenas et al. 2014).

La importancia de conocer la diversidad genética entre las poblaciones de una especie nos permite esclarecer las asociaciones históricas y los procesos de reestructuración genética que pueden conducir a la especiación (Kirchman et al. 2000; Castañeda-Rico 2008; Dixo et al. 2009; Arenas et al. 2014), así como los efectos de la heterogeneidad ambiental (e.g. fragmentación del hábitat) y el cambio climático observado como un efecto de deriva génica y disminución en la adecuación (Arenas et al. 2014; Forcada y Hoffman 2014).

Además de los factores del paisaje, factores ecológicos de las especies influyen en su diversidad y estructura genética, como es el caso del ámbito hogareño (Arenas et al. 2014). El ámbito hogareño es definido por Burt (1943) como el área dentro de la cual un animal se desplaza al realizar sus actividades normales tales como alimentación, búsqueda de pareja y reproducción. Con base en el tamaño del ámbito hogareño de machos y hembras es posible hacer inferencias acerca del sistema de apareamiento. Esta área puede modificarse debido a factores como el sexo, edad, peso y condiciones reproductivas del individuo, así como al tipo de hábitat, disponibilidad de alimento y temporalidad (Burt 1943; Spencer et al. 1990; Loretto y Viera 2005; Wood et al. 2010)

En el caso de especies polígamas los machos suelen tener ámbitos hogareños más grandes que las hembras (Clutton-Brock 1989; Ostfeld 1990; Fisher y Lara 1999; Marín-Macías et al. *enviado*) y estas características suelen afectar el sistema de apareamiento (Hamilton 2009), favoreciendo la endogamia y una baja diversidad genética local (Arenas et al. 2014).

Dada la distribución sumamente restringida y la rareza de *H. schmidlyi*, el objetivo principal de este trabajo fue determinar el estado genético de las poblaciones de *H. schmidlyi* tomando en cuenta los aspectos ecológicos que influyen en su distribución espacial y temporal. Y como objetivos particulares:

- Estimar la diversidad y estructura genética intra e interpoblacional de *H. schmidlyi*.

- Estimar el ámbito hogareño de *H. schmidlyi* en la población de Zacualpan, Edo. de México.

- Evaluar el estado de conservación de *H. schmidlyi* con base en los criterios del Método de Evaluación de Riesgo.

Con la finalidad de llevar a cumplir los objetivos de manera completa, esta tesis se dividió en tres capítulos, los cuales se titulan:

I. Genetic diversity of *Habromys schmidlyi* (Rodentia: Cricetidae) in two patches of cloud forest in central Mexico.

II. Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest

III. Evaluación de riesgo de extinción de *Habromys schmidlyi* de acuerdo al numeral 5.7 de la NOM-059-SEMARNAT-2010.

Los capítulos I y II se componen de resumen, introducción, resultados, material y métodos y discusión; cada uno de ellos en formato de artículo.

Capítulo I. The effect of fragmentation of cloud forest in genetic diversity: the case of *Habromys schmidlyi* (Rodentia: Cricetidae) an arboreal and endemic rodent in Mexico

The effect of fragmentation of cloud forest in genetic diversity: the case of *Habromys schmidlyi* (Rodentia: Cricetidae) an arboreal and endemic rodent in Mexico

Pablo Colunga-Salas^{1,2}; Soraia Barbosa^{3,4}; Cassandra Ramírez⁴; Jeremy B. Searle⁴; Livia León-Paniagua^{1*}

¹ Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico.

² Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Ciudad de México.

³ CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Universidade do Porto, InBIO Laboratório Associado, Campus Agrário de Vairão, Vairão, Portugal.

⁴ Department of Ecology and Evolutionary Biology, Cornell University, Ithaca, NY, USA.

* corresponding author: llp@ciencias.unam.mx

Abstract

The Mexican cloud forest is the most threatened ecosystem in the world and is distributed in less than 8 000 ha patches. This fragmentation affects genetic structure of populations while subdividing them into smaller units. As populations become more isolated, genetic diversity loss is greater due to lower effective population sizes, and increased genetic drift and inbreeding, thus decreasing the adaptive potential of species to a changing environment. The aim of this study is to evaluate genetic diversity of *Habromys schmidlyi*, a Critically Endangered rodent endemic to Mexico, in its only two known populations in the Central Mountains of Mexico. We analyzed the samples using Genotyping-by-Sequencing (GBS) libraries from which we obtained a total of 4 007 SNPs. Population differentiation analysis determined that these two populations form two distinct clusters with a negligible number of migrants and high differentiation among populations. Values including 0.5% of heterozygosity frequency, 0.54 for the H_O average, and 0.28 for the H_E average, reveal a random mating system and differences between loci, declining genetic diversity, high genetic diversity between both populations and negligible gene flow during the last generation among both populations. Our study highlights the importance of both populations as significant evolutionary units.

Key-words

SNPs, GBS, fragmentation, inbreeding, extinction

Introduction

Genetic diversity is considered one of the three forms of biodiversity by the World Conservation Union (IUCN), which deserves an important conservation focus as it allows species to deal with stressing conditions at their environment and sometimes even adapt to the new conditions (Glowka et al. 1994; Reed and Frankham, 2003; Garner et al. 2005; Gasca-Pineda et al. 2013). Some external factors that influence genetic diversity are mating systems, population size, home-range, migration and features of the landscape such as habitat fragmentation (Hamilton, 2009; Vázquez-Domínguez et al. 2009; Gasca-Pineda et al. 2013; Arenas et al. 2014) which usually results in loss of genetic diversity (Reed and Frankham, 2003).

Fragmentation is one of the most studied factors affecting genetic diversity worldwide (e.g. Vranckx et al. 2012; Blackhawk et al. 2016; Li et al. 2016; Millán-Aguilar et al. 2016). Fragmentation physically affects species distribution by splitting them into smaller populations, reducing home ranges due to resource scarcity and intra- and interspecific competition. In addition, fragmentation can increase the distance between populations, limiting migration and increasing their inbreeding levels. All of this results in loss of genetic diversity, as high genetic differentiation with lower levels of within-population variability as a consequence of reduced population size and isolation. This low genetic diversity can affect population viability and local adaptation (Frankham et al. 2002; Callens et al. 2011; Castañeda-Rico et al. 2011; Leonardi et al. 2012; Blackhawk et al. 2016; Li et al. 2016; Millán-Aguilar et al. 2016).

Cloud forest is the smallest and most threatened ecosystem in the world (CONABIO, 2010; Ruíz-Jiménez et al. 2012; Aranda et al. 2012). In Mexico, cloud forest occur in less than 0.5% of its territory and it is distributed in less than 8 000 ha patches (Figure 1a; López-Pérez et al. 2011; SEMARNAT, 2012). Despite the high degree of fragmentation, it is one of the most diverse ecosystems in Mexico (Rzedowsky, 1996; León-Paniagua et al. 2007; CONABIO 2010). All of these characteristics make cloud forests a biodiversity conservation

priority, due to the species isolation degree and the potential for species loss, which would affect genetic diversity worldwide (Glowka et al. 1994; Castañeda-Rico et al. 2011; Leonardi et al. 2012; Li et al. 2016).

Habromys schmidlyi (Romo-Vázquez et al. 2005) is a cricetid rodent restricted to two isolated patches in central Mexico and is considered Critically Endangered by the IUCN Red List of Threatened Species due to its small distribution, decreasing habitat area, and decreasing population numbers (Álvarez-Castañeda et al. 2008). *H. schmidlyi* is a strictly arboreal mice which use tree trunks to climb until 13 m above ground, and an abundant species in one of the two isolated-patches, when compared to *Reithrodontomys microdon* and *Peromyscus aztecus*, two other species recorded in the same habitat (Marines-Macías et al. *submitted*). However *H. schmidlyi* population density is still very low when compared to other rodents in the cloud forest such as species of the *Peromyscus* and *Microtus* genera (Colunga-Salas et al. *in prep*).

This species is only found in two isolated cloud-forest-patches in Central Mexico, one in Zacualpan, Mexico and the other in Taxco, Guerrero, both in Central Mountains in Mexico (Figure 1b; Romo-Vázquez et al. 2005; León-Paniagua et al. 2011; Marines-Macías et al. *submitted*; Colunga-Salas et al. *in prep*), despite previous efforts to locate other populations elsewhere in the distribution proposed by IUCN (Marines-Macías et al. *submitted*; Colunga-Salas et al. *in prep*).

The aim of this study is specifically to evaluate genetic diversity of *H. schmidlyi* in its only two known populations due to the lack of knowledge on the genetic viability of this species. However, more generally, this study also intends to contribute to the documentation of cloud forest mammalian biodiversity as well as the assessment of endemic genetic diversity for conservation efforts.

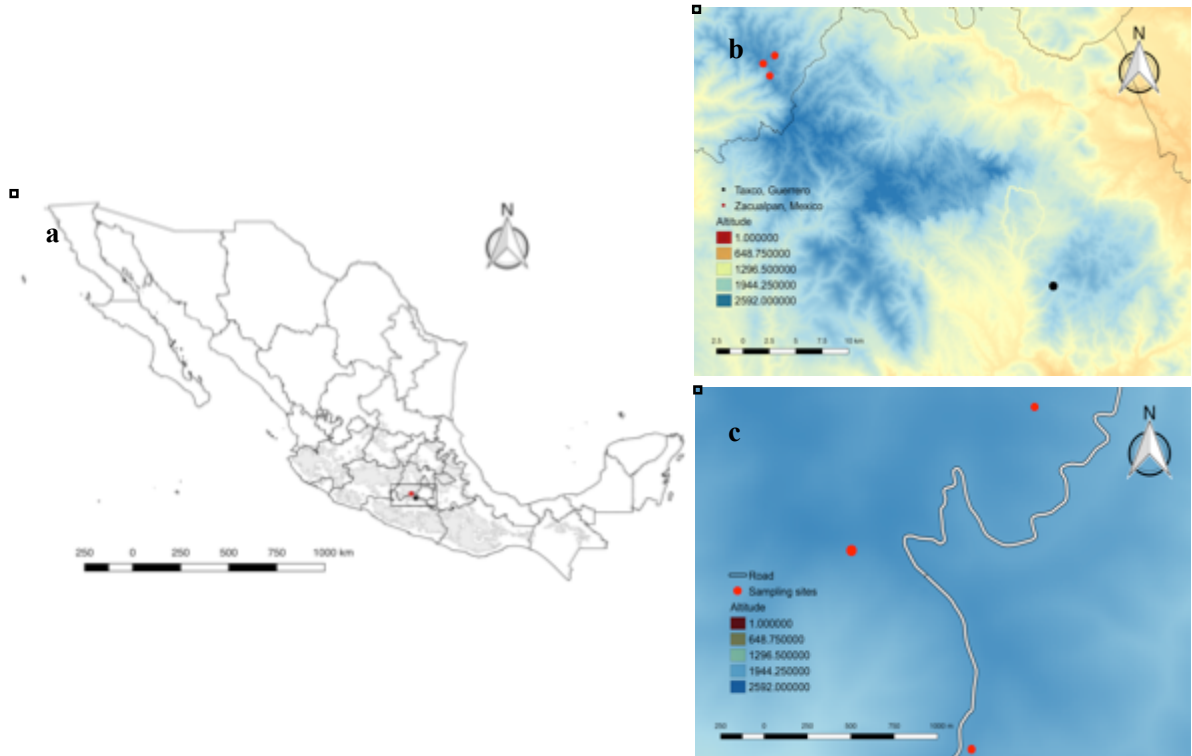


Figure 1. Sampling sites for *H. schmidlyi*. a: Distribution of cloud forest in Mexico according to the WWF in grey shading; the two sampling localities are represent by red and black dots; b: Sampling localities of *H. schmidlyi* and a gradient of altitude in Mexico Central Mountains; black dot represents Taxco population and red dots Zacualpan populations; c. Subpopulations of *H. schmidlyi* in Zacualpan; white line represents the principal road.

Materials and Methods

- Population sampling and DNA extraction

We sampled *H. schmidlyi* in the only two known populations, one in Taxco, Guerrero and the other in Zacualpan, Estado de México (Fig. 1). Taxco population is located at 2,400 meters of elevation, meanwhile Zacualpan population at 2,300 m. Both locations are in the Sierra de Taxco Mountains and separated geographically by the highest mountain (Fig. 1b; Miranda, 1947; Figueroa de Contín, 1980; León-Paniagua and Romo-Vázquez, 1993; Almazán-Núñez, 2009). The three dominant ecosystems in these regions are Cloud forest,

Quercus forest, and Gallery forest (Torres and Navarrete, 1986; Rzedowsky, 1996; Martínez-Gordillo et al. 2004).

Exhaustive fieldwork in Zacualpan was done throughout the State Park and surrounding areas in order to cover all ecosystems. Sampling was performed during March and April 2015 with Sherman live-traps placed on trees and at ground level, following methods by Marines-Macías et al. *submitted*. All traps were baited with a mix of oats, apples and vanilla extract.

A total of 19 individuals were collected in Zacualpan, after a physical immobilization, we obtain a small ear biopsy from each individual. Individuals from Zacualpan were subdivided into three localities (3, 14 and 2 individuals from each locality) separated approximately by 1.2 km from each other and physically isolated by the principal road of the site (Figure 1c). Meanwhile, for the Taxco population, we obtained 35 small ear biopsies during fieldwork done by Marines-Macías et al. *submitted*.

We performed DNA extractions with the OMEGA Bio-tek Tissue DNA kit with some modifications in order to increase DNA yield according to tissue type (in most cases ear tissue; **SI**).

- *Genotyping-By-Sequencing (GBS) data*

GBS library was constructed via PstI restriction enzyme (modified from Elshire et al., 2011) using 5-10 µg DNA (quantified using the Qubit 2.0 Fluorometer dsDNA Broad Range Assay) and then sequenced on an Illumina HiSeq 2000/2500 (100 bp, single reads) in the Biotechnology Resource Center (BRC) Genomic Diversity Facility (157 Biotech Building, Cornell University, Ithaca, NY, USA). Due to the lack of reference genome for *H. schmidlyi*, we obtained SNPs using the UNEAK pipeline (Lu et al. 2012). We performed further filtering in order to avoid repeated and paralogous loci (https://github.com/mgharvey/GBS_process_Tom_White).

We performed a Principal Coordinates Analysis (PCoA) using *ade4* package (Dray et al. 2016) in order to test for the genetic variation of the obtained SNPs and their distribution among populations in a model-free framework.

- *Genetic diversity analyses*

We evaluated genetic variability in each population by estimating observed (H_O) and expected (H_E) heterozygosity using Arlequin 3.5.2 while allowing 5% of loci missing data for each population and 10 000 global iterations.

- *Genetic structure analyses*

We used the R package *diveRsity* (Keenan 2015) to calculate Fisher's exact test of sample independence among loci and between populations, applying a Bonferroni correction for multiple comparisons (Rice 1989). We calculated *Gst* (Hedrick 2005), and Cockerham's *Fit* and *Fst* between populations and *Fis* within populations, using 10 000 bootstraps. Specifically for *G'st* and Jost's *D*, we used a filter threshold = 0 (**SII**; Keenan 2015).

Population genetic structure was determined using STRUCTURE software (Pritchard et al. 2000). We performed ten independent runs, testing for number of populations (K) from 1 to 5, with a burn-in period of 200,000 iterations and a total of 800,000 Markov Chain Monte Carlo iterations (1,000,000 of total iterations). We used the Structure Harvester program (Earl et al. 2012) to determine the most probable number of populations by calculating the ΔK value (**SII**; Evanno Method; Evanno et al. 2005).

- *Migration analysis*

Meanwhile for migration test, we calculated Jost *D* (Jost 2008) and *Gst* (Hedrick 2005) with a filter threshold = 0 and 10,000 bootstraps (**SII**; Keenan 2015).

Results

A total of 44 individuals, 16 individuals from Zacualpan (1, 14 and 1 in each sample site, according to Figure 1c) and 28 from Taxco were included for genetic diversity analyses, with a maximum of 25% SNPs missing data.

According to the PCoA exploratory analysis, a clear differentiation among SNPs in both populations were observed, indicating two different groups corresponding to Zacualpan and Taxco populations (Figure 2).

- Genetic diversity

Of the 40 665 SNPs obtained with UNEAK pipeline only 4 007 provided results within the expected 5-10% loss range because of multiplex amplification with an average heterozygosity frequency of 0.5%. H_D/H_E values were 0.29/0.28 for Taxco and 0.28/0.28 for Zacualpan with an average of 0.28/0.28, respectively.

- Genetic structure

With the Bonferroni correction, a total of 1 654 loci were independent between individuals between both populations. Within-population variability in both populations reveals significantly low levels of variability ($G_{st} = 0.118$, $F_{it} = 0.122$; $P = 0.62$), however a heterozygosity index does not show significant levels (F_{is} for Zacualpan population = -0.04 and for Taxco population = 0.01 and a global $F_{is} = -0.0014$; $P = 0.001$).

On the other hand, both populations show significant differentiation levels ($F_{st} = 0.123$; $P = 0.56$). Meanwhile, the STRUCTURE analysis indicated that the most likely number of clusters were $K = 2$, with high differentiation between the individuals of Zacualpan and Taxco (Figure 3).

The migration test reveals negligible number of migrants between populations and high differentiation (Figure 4).

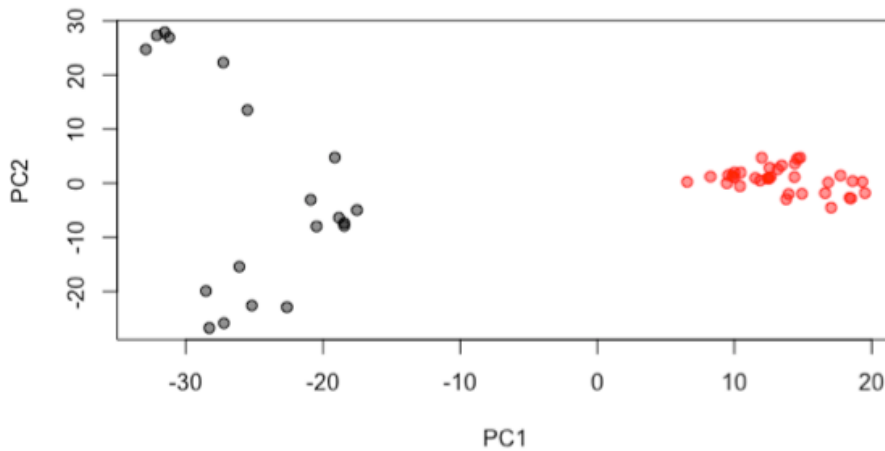


Figure 2. Principal Coordinates Analysis (PCoA) using SNPs obtained by UNEAK pipeline for *H. schmidlyi*. Black dots indicate SNPs present in Taxco population and red dots indicate SNPs in Zacualpan population.

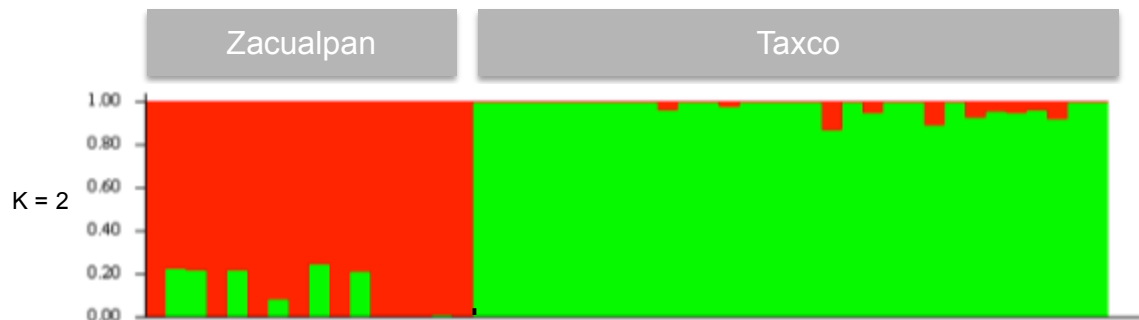


Figure 3. Model-based clustering of 43 *H. schmidlyi* individuals using STRUCTURE software. A single bar represents each individual; black line separates sample sites; the whole sample is divided into K colors representing the number of populations assumed. The colors show the estimated individual proportions of population membership.

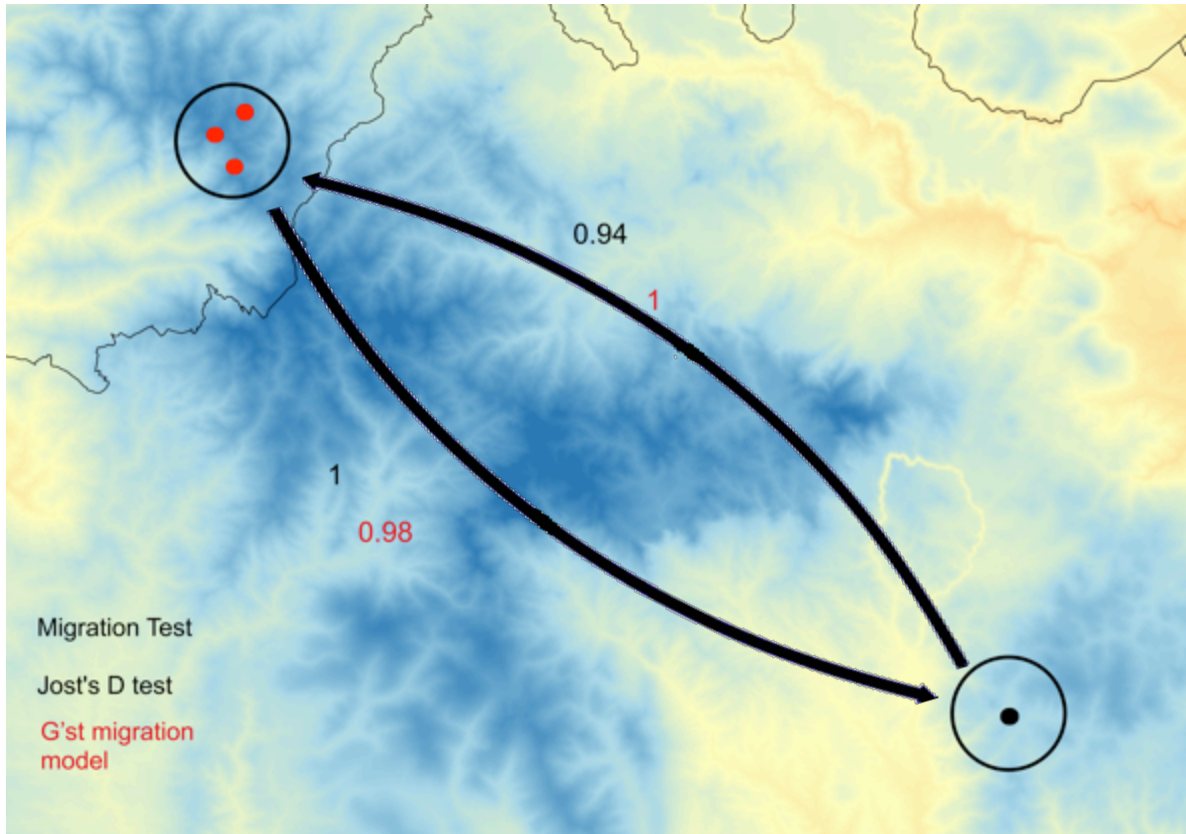


Figure 4. Migration tests. Numbers in black indicate Jost D index, numbers in red indicate G_{st} migration model index. The black dot represents *H. schmidlyi*'s Taxco population and the red dots represent Zacualpan populations in an altitude gradient.

Discussion

Fragmentation of cloud forests in Mexico is increasing at a very alarming rate (CONABIO, 2010). Since the last National Inventory in Mexico, cloud forests have lost half of their distribution (López-Pérez et al. 2011). CONABIO (2010) López-Pérez et al. (2011) had declared that the main cause of habitat loss is fragmentation as a consequence of anthropogenic activities.

This is the first study on genetic diversity of *H. schmidlyi*, a rodent restricted to only two known populations in two patches of cloud forest in Central Mexico. Although our sample size is small, genetic data proves to be important in order to increase knowledge about this endangered micro-endemic rodent.

- Genetic diversity

Heterozygosity (as $H_E = 0.31$ in both populations) was lower compared with other endemic rodents such as *Antechinus agilis* ($H_E = 0.844 - 0.86$; Banks et al. 2005), *Oryzomys couesi cozumelae* ($H_E = 0.690 - 0.864$; Vega et al. 2007), *H. simulatus* ($H_E = 0.627 - 0.704$; Castañeda-Rico et al. 2011), *Reithrodontomys spectabilis* ($H_E = 0.659 - 0.765$; Espindola et al. 2014), and compared with species distributed in fragmented areas such as *Petauroides volans* ($H_E = 0.59 - 0.77$; Taylor et al. 2007).

According to the values of H_E and both positive values of F_{is} , we observed the decrease of heterozygotes possibly by the mating system and a probably low effective size of the population (Wright 1951; Weir and Cockerham 1984; Garner et al. 2005; Frankham et al. 2005; Espindola et al. 2014). This phenomenon has been observed in populations with physical barriers among their distribution range and also in territorial species (Frère et al. 2010; Castellanos-Morales et al. 2014). Both characteristics are remarkable in threatened and isolated species such as *A. agilis*, *O. c. cozumelae*, and *H. simulatus* (Banks et al. 2005; Vega et al. 2007; Castañeda-Rico et al. 2011) and *H. schmidlyi*.

- Genetic structure

A high differentiation between both populations of *H. schmidlyi* is clearly defined by F_{st} , G_{st} and STRUCTURE analyses, probably due to its isolation, arboreal habits and home-range, features which drives non-random mating systems (Wright 1951; Weir and Cockerham 1984; Garner et al. 2005).

Differentiation between populations and a low inbreeding coefficient (F_{it}) could imply that genetic diversity is declining among the *H. schmidlyi* populations due to its great population structure and its within-population low genetic diversity.

The values for migration rate between *H. schmidlyi*'s populations are essentially null, indicating that migration or gene flow during the last generation

was negligible. This probably is favoring the high genetic differentiation between populations (Castellanos-Morales et al. 2014; Espindola et al. 2014).

From all of the plausible drivers directing the decrease of genetic diversity in the populations of *H. schmidlyi*, isolation by distance could account for the genetic differentiation observed due to its small home range (in average 0.81-1.48 ac; Marines-Macías et al. submitted), which includes only three or four tree canopies. Another likely driver is the small cloud forests patches where the species occurs, which could be similar to islands (Garner et al., 2005; Wang et al. 2005; Castañeda-Rico et al. 2011; Espindola et al. 2014), as it has been seen in *H. simulatus* (Castañeda-Rico et al. 2011) and *Reithrodontomys spectabilis* (Espindola et al. 2014).

Fragmentation has been associated with decreasing genetic diversity among populations as a result of isolation and habitat loss. It is one of the most common factors that support the isolation-by-distance phenomenon (Frankham et al. 2002; Callens et al. 2011). Previous studies suggest that levels of genetic differentiation are generally higher in more fragmented landscapes, defined as the degree to which landscape elements difficult movements between patches (Taylor et al. 1993; Frankham et al. 2002; Callens et al. 2011), characteristics found among localities sampled for *H. schmidlyi* where cloud forest patches are surrounded by crop area or types of vegetation not preferred by the species (Marines-Macías et al. submitted).

Our study highlights the importance of both populations as significant evolutionary units (Moritz 1995; Castañeda-Rico et al. 2011; Eizaguirre and Baltazar-Soares 2014), with significant importance in the conservation of *H. schmidlyi*, which had already been declared by the IUCN as a threatened species for its decreasing population size, which is confirmed with our analyses (Álvarez-Castañeda et al. 2008; Moritz and Potter 2013) Temporal monitoring of genetic diversity can be used to drive policy and decision makers to improve actions addressed to conservation of this and other species in cloud forest (Eizaguirre and Baltazar-Soares 2014).

All of this is important to consider because genetic diversity of *H. schmidlyi* is decreasing possibly due to its current isolation drive by cloud forest habitat fragmentation, its reduced number of populations, and low population density (Mitrovski et al. 2007; Castañeda-Rico et al. 2011; Castellanos-Morales et al. 2014; Espindola et al. 2014; Colunga-Salas et al. *in prep*). All of these factors could increase the risk of extinction due to its high inbreeding level and low genetic diversity (Mitrovski et al. 2007; Castañeda-Rico et al. 2011).

Literature Cited

- Almazán-Núñez C. 2009. Información adicional sobre la avifauna de la Sierra Norte de Guerrero México. *Acta Zoológica Mexicana* 25:537-550.
- Álvarez-Castañeda S. T., I. Castro-Arellano, T. Lacher and E. Vázquez. 2008. *Habromys schmidlyi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T136616A4318725.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T136616A4318725.en>
Downloaded on 16 June 2016.
- Aranda M., F. Botello and L. López-de Buen, 2012. Diversidad y datos reproductivos de mamíferos medianos y grandes en el bosque mesófilo de montaña de la reserva de la biósfera Sierra de Manatlán, Jalisco-Colima, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83:778-784.
- Arenas M., S. Mona, A. Trochet, A. S. Hanulova, M. Currat, N. Ray, L. Chikhi, R. Rasteiro, D. S. Schmeller and L. Excoffier. 2014. The scaling of genetic diversity in a changing and fragmented world. En: Henle K., S. G. Potts, W. E. Kunin, Y. G. Matsinos, J. Similä, J. D. Pantis. V. Grobelnik, L. Penev y J. Settele (Eds.). *Scaling in ecology and biodiversity conservation*. Pensoft Publishers, Sofia, 55-60.
- Banks S. C., G. R. Finlayson, S. J. Lawson, D. B. Lindenmayer, D. Paetkau, S. J. Ward and A. C. Taylor. 2005. The effects of habitat fragmentation due to forestry plantation establishment on the demography and genetic variation of a marsupial carnivore, *Antechinus agilis*. *Biological Conservation*, 122:581-597.

- Callens T., P. Galbusera, E. Matthysen, E. Y. Durand, M. Githiru, J. R. Huyghe and L. Lens. 2011. Genetic signature of population fragmentation varies with mobility in seven bird species of a fragmented Kenyan cloud forest. *Molecular Ecology*, 20:1829-1844.
- Castañeda-Rico S., L. León-Paniagua, L. A. Ruedas and E. Vázquez-Domínguez. 2011. High genetic diversity and extreme differentiation in the two remaining populations of *Habromys simulatus*. *Journal of Mammalogy*, 92:963-973.
- Castellanos-Morales G., J. Gasca-Pineda, G. Ceballos and J. Ortega. 2014. Genetic variation in a peripheral and declining population of black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*) from Mexico. *Journal of Mammalogy*, 95:467-479.
- Colunga-Salas P., T. Marines-Macías and L. León-Paniagua. Estado de conservación del último parche de bosque mesófilo de montaña en Guerrero, México. *In prep*
- CONABIO 2010. El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible. México, D.F.
- Dray S., A. B. Dufour and J. Thioulouse. 2016. Analysis of Ecological Data: exploratory and Euclidean methods in environmental sciences. CRAN.
- Earl D. A., M. Bridgett and M. von Holdt. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4:359-361.
- Eisaguirre C. and M. Baltazar-Soares. 2014. Evolutionary conservation-evaluating the adaptive potential of species. *Evolutionary Applications* 7:963-967.
- Elshire R.J., J. C. Glaubitz, Q. Sun, J. A. Poland, K. Kawamoto, E. S. Buckler and S. E. Mitchell. 2011. A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6:e19379.
- Espindola S., A. D. Cuarón, O. E. Gaggiotti and E. Vázquez-Domínguez. 2014. High genetic structure of the Cozumel Harvest mice, a critically endangered island endemic: conservation implications. *Conservation Genetics*, 15:1393-1402.

- Evanno G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611 - 2620
- Excoffier L., P. M. Smouse and J. M. Quatro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetic*, 131:479-491.
- Frankham R., J. Ballou and D. Briscoe. 2005. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Frère C. H., M. Krützen, J. Mann, R. C. Connor, R. Bejder, W. B. Sherwin and G. H. Orians. 2010. Social and genetic interactions drive fitness variation in a free-living dolphin population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107:19949-19954.
- Gasca-Pineda J., I. Cassaigne, R. A. Alonso, L. E. Eguiarte. 2013. Effective population size, genetic variation, and their relevance for conservation: The bighorn sheep in Tiburon Island and comparisons with managed artiodactyls. *Conservation Biology*, 8:1-12.
- Garner A., J. L. Rachlow and L. P. Waits. 2005. Genetic diversity and population divergence in fragmented habitats: conservation of Idaho ground squirrels. *Conservation Genetics*, 6:759-774.
- Glowka L., F. Burhenne-Guilmin, H. Synge, J. A., McNeely and L. Gündling. 1994. *A Guide to the Convention on Biological Diversity*, IUCN Gland and Cambridge XII, 161pp.
- Hamilton M. B. 2009. *Population genetics*. Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom.
- Hartl D. L. and A. G. Clark. 1997. *Principles of population genetics*. 3rd Edition, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Hedrick P. W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59:1633-1638.

- Jost L. 2008. GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17:4015–4026
- Keenan K. 2015. A Comprehensive, General Purpose Population Genetics Analysis Package. Cran Repository: <http://diversityinlife.weebly.com/>
- Ledig F. T. 1992. Human impacts on genetic diversity in forest ecosystem. *Oikos*, 63:87-108.
- León-Paniagua L. and E. Romo-Vázquez, 1993. Mastofauna de la Sierra de Taxco, Guerrero. En: *Avances en el estudio de los mamíferos de México*, R. A. Medellín y G. Ceballos, (Eds.). Publicaciones Especiales, Asociación Mexicana de Mastozoología, México, D.F.
- Leonardi S., P. Piovani, M. Scalfi, A. Piotti, R. Giannini and P. Menozzi. 2012. Effect of habitat fragmentation on the genetic diversity and structure of peripheral populations of beech in Central Italy. *Journal of Heredity*, 103:408-417.
- López-Pérez Y., J. D. Tejero-Díez, A. N. Torres-Díaz, and I. Luna-Vega. 2011. Flora del bosque mesófilo de montaña y vegetación adyacente en Avándaro, Valle de Bravo, Estado de México, México. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 88:35–53.
- Lu F., J. Glaubitz, J. Harriman, T. Casstvens and R. Elshire. 2012. TASSEL 3.0 Universal Network Enabled Analysis Kit (UNEAK) pipeline documentation. *Unfinished work*
- Marines-Macías T., P Colunga-Salas, L. D. Verde-Arregoitia, E. Naranjo and L. León-Paniagua. Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest. *Biodiversity and Conservation* (submitted).
- Martínez-Gordillo M., R. Cruz Durán, J. F. Castrejón Reyna, S. Valencia Ávalos, J. Jiménez Ramírez and C. A. Ruiz-Jiménez, 2004. Flora vascular de la porción guerrerense de la Sierra de Taxco, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 75:105-189.

- Miranda F., 1947. Estudios sobre la vegetación de México. V. Rasgos de la vegetación en la cuenca del río de las balsas. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 8:95-115.
- Mitrovski P., D. A. Heinze, L. Broome, A. Hoffman and R. Weeks. 2007. High levels of variation despite genetic fragmentation in populations of the endangered mountain pygmy-possum, *Burramys parvus*, in alpine Australia. *Molecular Ecology*, 16:75-87.
- Moritz C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Bulletin of the Biological Sciences*, 349:113-118.
- Moritz C. C. and S. Potter. 2013. The importance of an evolutionary perspective in conservation policy planning. *Molecular Ecology*, 22:5969-5971
- Pritchard J. K., M. Stephens and P. Donnelly. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155:954-959.
- Reed D. H. and R. Frankham. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17:230-237.
- Rice W. R. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution*, 43:223-225.
- Romo-Vázquez E., L. León-Paniagua y O. Sánchez, 2005. A new species of *Habromys* (Rodentia: Neotominae) from Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118:603-618.
- Ruiz-Jiménez C. A., O. Téllez-Valdés and I. Luna-Vega. 2012. Clasificación de los bosques mesófilos de montaña de México: afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83:1110-1144.
- Rzedowski J., 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. *Acta Botánica Mexicana*, 35:25-44.
- SEMARNAT 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental de especies nativas de México de flora y fauna silvestres, categoría de

riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio en la lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. México.

Taylor A. C., H. Tyndale-Biscoe and D. B. Lindenmayer. 2007. Unexpected persistence on habitat islands: genetic signatures reveal dispersal of a eucalypt-dependent marsupial through a hostile pine matrix. *Molecular Ecology*, 16:2655-2666

Taylor P. D., L. Fahring, K. Henein and G. Merriam. 1993. Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos*, 68:571-573.

Vázquez-Domínguez E., A. Mejía-Puente y R. Vega. 2009. *Oryzomys couesi* en el sureste de México: estimaciones genéticas y filogeográficas. En: 60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Aportaciones al Conocimiento y Conservación de los mamíferos mexicanos, F. A. Cervantes, J. Vargas-Cuenca y Y. Hortelano-Moncada (comps.). Instituto de Biología, UNAM, México, 197-211 pp.

Vega R., E. Vázquez-Domínguez, A. Mejía-Puente and A. D. Cuarón. 2007. Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biological Conservation*, 137:210-222.

Wang Y. D. A. Williams, M. S. Gaines. 2005. Evidence for a recent genetic bottleneck in the endangered Florida Keys silver rice rat (*Oryzomys argentatus*) revealed by microsatellite DNA analyses. *Conservation Genetics*, 6:575–585.

Weir B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38:358-1370.

Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annual Eugen*, 15:323-354.

Supplementary information

I. Tissue DNA protocol. Modified for arboreal mice

1. Mince up to 30 mg tissue and transfer in a 1.5 mL microcentrifuge tube.
2. Add 200 μ L TL Buffer.
3. Add 25 μ L OB Protease Solution. Vortex to mix thoroughly. 25 μ L 1 M DTT also added (because of hair, feathers, nails, etc.).
4. Incubate at 55°C.
5. Centrifuge at maximum speed ($\geq 10,000 \times g$) for 5 minutes.
6. Transfer the supernatant to a sterile 1.5 mL microcentrifuge tube. Do not disturb or transfer any of the insoluble pellet.
7. Add 220 μ L BL Buffer. Vortex to mix thoroughly.

Note: A wispy precipitate may form upon the addition of BL Buffer. This does not interfere with DNA recovery.

8. Incubate at 70°C for 10 minutes.
9. Add 220 μ L 100% ethanol. Adjust the volume of ethanol required based on the amount of starting material. Vortex to mix thoroughly.
10. Insert a HiBind® DNA Mini Column into a 2 mL Collection Tube.
11. Transfer the entire sample from Step 9 to the HiBind® DNA Mini Column including any precipitates that may have formed.
12. Centrifuge at maximum speed for 1 minute.
13. Discard the filtrate and reuse the collection tube.
14. Add 500 μ L HBC Buffer.

Note: HBC Buffer must be diluted with isopropanol before use.

15. Centrifuge at maximum speed for 30 seconds.
16. Discard the filtrate and collection tube.
17. Insert the HiBind® DNA Mini Column into a new 2 mL Collection Tube.
18. Add 700 μ L DNA Wash Buffer.

Note: DNA Wash Buffer must be diluted with ethanol before use.

19. Centrifuge at maximum speed for 30 seconds.

20. Discard the filtrate and reuse the collection tube.
21. Repeat Steps 18-20 for a second DNA Wash Buffer wash step.
22. Centrifuge the empty HiBind® DNA Mini Column at maximum speed for 2 minutes to dry the column.
23. Transfer the HiBind® DNA Mini Column into a nuclease-free 1.5 mL microcentrifuge tube.
24. Add 45 µL Elution Buffer heated to 70°C.
25. Let sit at room temperature for 2 minutes.
26. Centrifuge at maximum speed for 1 minute.
27. Repeat Steps 24-26 for a second elution step, instead with 50 µL Elution Buffer into a second tube.

Note: Each 200 µL elution will typically yield of 60-70% of the DNA bound to the column. Thus two elutions will generally yield ~90%. However, increasing the elution volume will reduce the concentration of the final product. To obtain DNA at higher concentrations, elution can be carried out using 50-100 µL Elution Buffer (which slightly reduces overall DNA yield). Volumes lower than 50 µL greatly reduce yields. In some instances yields may be increased by incubating the column at 70°C (rather than at room temperature) upon the addition of Elution Buffer.

28. Store eluted DNA at -20°C.

II. R scripts used by genetic diversity parameters

1. Fisher's exact tests of sample independence between loci

```
chiCalc(infile = "h25gd.txt", outfile = "global_chicalc.txt",  
        pairwise = F, mcRep = 10000)
```

2. Fisher's exact tests of sample independence between populations

```
chiCalc(infile = "h25gd.txt", outfile = "pairwise_chicalc.txt",  
        pairwise = T, mcRep = 10000)
```

3. Fst parameters (G'st, Jost's D, Fis and Fst)

```
diffCalc(infile = "h25gd.txt", outfile = "BDh25",  
         fst = T, pairwise = TRUE, bs_locus = F,  
         bs_pairwise = T, boots = 1000, ci_type = "individuals",  
         alpha = 0.05, para = F)
```

4. Migration Test

```
divMigrate(infile = "h25gd.txt", outfile = "migrateh25.txt", boots = 1000,  
           stat = "all", filter_threshold = 0, plot_network = T,  
           plot_col = "darkblue", para = F)
```

Capítulo II. Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest

Biodiversity and Conservation Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest
Article Type:	Original Research
Keywords:	Vertical stratification; home-range; habitat selection; telemetry
Corresponding Author:	Livia León-Paniagua, Ph.D. Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM Mexico, City, Mexico, City MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Tania Marines-Macias, Biol.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Tania Marines-Macias, Biol. Pablo Colunga-Salas, Biol. Luis Verde Arregoitia, Ph.D. Eduardo Naranjo, Ph.D. Livia León-Paniagua, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	Dirección General Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México (PAPIIT-IN216713) Mrs. Livia León-Paniagua
Abstract:	Studying animal space use patterns can help increase our understating of ecological processes such as competition and community dynamics. To quantify space and habitat use in an isolated and patchy cloud forest community, we evaluate the vertical stratification, home-range, and habitat selection of two arboreal rodents: <i>Habromys schmidlyi</i> and <i>Reithrodontomys microdon</i> . Using live-traps at ground level and at different forest strata, we radio-equipped individuals of both species and evaluated fine-scale space use and broad-scale habitat selection between cloud forest and oak forest. We found an average home-range of 1.06 ac for <i>R. microdon</i> males and 1.48 ac for females, with a preference for higher canopy within the cloud forest. The home range for <i>H. schmidlyi</i> was 1.48 ac for males and 0.81 ac for females, with a preference for the understory level in the cloud forest. We characterized the vegetation at the trap sites, and related the presence of different plants with the probability of finding the two species using recursive partitioning. The highest probability of finding <i>R. microdon</i> (96%) related to the presence of the mosses <i>Brachythecium occidentale</i> and <i>Renauldia mexicana</i> . The highest probability of presence for <i>H. schmidlyi</i> (95%) was in close proximity to the moss <i>Fabronia ciliaris</i> and lichens of the genus <i>Everniastrum</i> . We highlight the importance of arboreal trapping in biodiversity assessments, and the role of arboreal rodents in maintaining tropical forest ecosystems. Despite their differences in space use, we suggest that both species can be biological indicators for cloud forest management and conservation.
Suggested Reviewers:	Cory T. Williams, Dr. Assistant research profesor, Northern Arizona University Cory.Williams@nau.edu Dr. Williams has experience on animal movements, spatial and temporal variation, food

Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest

Tania Marines-Macías¹, Pablo Colunga-Salas¹, Luis D. Verde Arregoitia², Eduardo J. Naranjo³ and Livia León-Paniagua^{1*}

¹ Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán A. P. 70-399, D. F., Mexico, 04510.

² Naturhistorisches Museum Bern, Bernastrasse 15, CH-3005, Switzerland.

³Departamento de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de Las Casas 29290, Chiapas, Mexico.

*corresponding author: llp@ciencias.unam.mx. Telephone: 015556230222 extension 44720

Abstract

Studying animal space use patterns can help increase our understating of ecological processes such as competition and community dynamics. To quantify space and habitat use in an isolated and patchy cloud forest community, we evaluate the vertical stratification, home-range, and habitat selection of two arboreal rodents: *Habromys schmidlyi* and *Reithrodontomys microdon*. Using live-traps at ground level and at different forest strata, we radio-equipped individuals of both species and evaluated fine-scale space use and broad-scale habitat selection between cloud forest and oak forest. We found an average home-range of 1.06 ac for *R. microdon* males and 1.48 ac for females, with a preference for higher canopy within the cloud forest. The home range for *H. schmidlyi* was 1.48 ac for males and 0.81 ac for females, with a preference for the understory level in the cloud forest. We characterized the vegetation at the trap sites, and related the presence of different plants with the probability of finding the two species using recursive partitioning. The highest probability of finding *R. microdon* (96%) related to the presence of the mosses *Brachythecium occidentale* and *Renauldia mexicana*. The highest probability of presence for *H. schmidlyi* (95%) was in close proximity to the moss *Fabronia ciliaris* and lichens of the genus *Everniastrum*. We highlight the importance of arboreal trapping in biodiversity assessments, and the role of arboreal rodents in maintaining tropical forest ecosystems. Despite their differences in space use, we suggest that both species can be biological indicators for cloud forest management and conservation.

Key-words

Vertical stratification; home-range; habitat selection; telemetry

Introduction

Space use patterns such as vertical stratification, home-range, and habitat selection are significant aspects of rodent communities. Space use is an important study topic because rodents are of high importance to ecosystem processes as seed dispersers and consumers. Fruits and seeds that fall from trees play an important role in some ecological factors of terrestrial communities such as species' abundance. Therefore, rodents are key elements because in their interactions with fruits and seeds, they can modify the dynamics of ecosystems and contribute to vital processes such as regeneration (Compton *et al.* 1996; Shanahan and Compton 2000; Vander-Wall *et al.* 2005). Arboreal rodents play a primary role in ecological systems because they start the flow of food down from the treetops, facilitating feeding for communities at ground level (Fleming 1979; August 1983).

Arboreal mice also help enhance community diversity by exploiting canopy resources, leaving ground-level resources for non-arboreal animals (MacArthur *et al.* 1966; August 1983). In the same way, vertical stratification is an important space use strategy that allows various arboreal mammals to partition resources and coexist within the same ecosystem (Estrada and Coates-Estrada 1985; Ungar 1996). Ecological aspects such as home-range, habitat use, habitat selection, and population density are influenced by this mechanism (White and Garrot 1990; Kernohan *et al.* 2001). However, little is known about habitat segregation by small arboreal mammals (Wells *et al.* 2004), mostly because of the difficulties associated with studying the top layers of the forest (Monteiro-Vieira and Monteiro-Filho 2003).

Here, we focus on the space and habitat use of *Habromys schmidlyi* and *Reithrodontomys microdon* in an isolated cloud forest patch located in northeastern Guerrero state, Mexico.

We trapped arboreal small mammals at various forest strata and used telemetry to evaluate habitat use and determine home-range sizes. To identify the habitat features associated with the different rodent species, we

characterized and classified the vegetation at the study site. Given that our focal species spend most of their lives in trees, we undertook a fine-scale survey of the arboreal epiphytes associated with the locations at which individuals were trapped or radio-located. We examine the vertical stratification, home-range size, and habitat selection of three rodent species. In addition, we comment on some aspects of the presence of *Peromyscus aztecus* in our study area, with information about its habitat selection and semi-arboreal habits. That way, we determine some ecological aspects that model species' coexistence, probably allowing the preservation and regeneration of the cloud forest they inhabit.

Materials and methods

- Study site

This study was conducted at the “Cerro del Huixteco” State Park (18° 36' N - 99° 36' W) in the Sierra de Taxco, Guerrero, Mexico. The site has ≈77 ha of *Quercus* oak forests integrated with primary cloud forest, which occurs in the most humid and better-protected sites (León-Paniagua *et al.* 2010; Martínez *et al.* 2004).

The park is dominated by two main types of topography: steep slopes and semi-flat areas. The steep slopes surround ravines in which the highest trees are found. On the other hand, the semi-flat areas are more accessible and have mid-height trees.

- Vertical stratification

Trapping was conducted concurrently in three forest strata for a total of 40 days divided into two periods, the first in June 2012 and the second from March through April 2013. The strata trapped were the ground layer (0 m), understory layer (1-10 m) and canopy layer (11-20 m). We used 120 Sherman live-traps in each survey, which were placed as follows: (1) 60 live-traps in a continuous transect along the ground, (2) 30 in the understory layer and (3) 30 in the canopy layer in trees. Understory and canopy traps were placed on tree trunks branches using climbing equipment to reach the highest possible canopy layers (20 m). For

all individuals captured, we recorded body measurements and breeding condition (Wood *et al.* 2010). Each individual was tagged with an ear notch, and then released at or near the point of capture. We took the total number of individuals captured at each stratum as animals present in that stratum (Rader and Krockenberger 2006a; Rader and Krockenberger 2006b).

– *Home-range*

In order to assess whole species home-range, we evaluate the two only-known populations for *H. schmidlyi*, in “Cerro del Huixteco” State Park, Guerrero and “Picacho de Oro y Plata” State Park, Zacualpan, Estado de México (March-April 2015; For more information about area: Romo-Vázquez *et al.* 2011). For both localities, we calculate home-range for *H. schmidlyi* and *R. microdon* in the same way as follow.

Individuals were equipped with TXB-003G radio-transmitters (Telenax, Mexico), weighing 0.6 g and representing 2.5% of the animals’ body weight ($\pm 1.08\%$ SD) on average (variation, 1.2% g). Each radio-transmitter was attached suprascapularly with a drop of instant dry glue (Fig. 1). No individual was trapped and radio-tagged in both of the sampling seasons. Radiolocations were taken using a handheld three-element Yagi directional antenna and an RX-TLNX receiver (Telenax). Radio-locations were taken one day after the individuals had been released (Springer, 2003) and with a 30 minute (on average) time lapse between fixes. All individuals were located at night (20:00-03:00 h). Every location fix was georeferenced.

– *Habitat attributes*

To determine broad-scale habitat selection, we assigned all trapping or radio-tracking points as belonging to either cloud forest or oak forest given their location in the park. In the case of fine-scale habitat selection for arboreal species, we took samples of every epiphyte plant on the trees in which they were found. For terrestrial species, we sampled was trees and plants near the place of the trapping points where the mouse was found. All epiphyte, plant and tree

samples were identified to species level. A total of 84 trees of 13 species and 35 epiphyte species were characterized.

DATA ANALYSIS

The relationship between abundances in each stratum per species was analyzed with Chi-square tests. Expected values were generated assuming a uniform distribution across the strata (STATISTICA V. 10; StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma).

– *Home-range*

Home-range sizes were calculated with Kernel estimating functions in the *R* (V3.1.2) scripting environment, using the *adehabitatHR* package (Calenge 2015). Only spatially-unique locations were considered for analyses. We considered potential differences between female and male home-range sizes of each species and breeding condition.

– *Habitat selection*

All individuals were divided into two groups depending on the vegetation type where each one was captured (oak forests or cloud forest). Chi-square tests were used to analyze differences between species abundances per vegetation type to evaluate wide-scale habitat selection. Expected values were generated assuming a uniform distribution across vegetation types.

To evaluate fine-scale habitat selection, we built a non-correlated matrix of presence/absence per rodent species with all epiphyte species present in same number of trees where the species was and was not captured or radio-located. Using recursive partitioning analysis (RPA) on this matrix (JMP 11.2.0, SAS Institute Inc., 2013), we obtained the best classification and regression tree (CART) (De'Ath and Fabricius 2000) to establish the necessary conditions with the highest probability of presence of rodent species in the ecosystem.

These methods recursively partition data into groups of increasingly similar observations based on the predictors, in this case creating bifurcating trees

based on the plant species at the study site that would best predict the presence of a particular species of rodent.

For terrestrial species, we characterized the ground plant species within a 3 m x 3 m area using the trap where animal was captured as central point. Additionally, we characterized the same number and size of random areas where individuals were not captured, whereby the matrix and RPA analyses were made.

Results

We captured three different rodent species in the study area: Schmidly's deer mouse (*Habromys schmidlyi*), the small-toothed harvest mouse (*Reithrodontomys microdon*) and the Aztec mouse (*Peromyscus aztecus*). The most abundant species was *H. schmidlyi* followed by *R. microdon* and finally *P. aztecus*. There were no significant differences among species' abundances ($P > 0.05$, Kruskal-Wallis test).

We found reproductive activity only in *H. schmidlyi* and *R. microdon* during the second survey in March/April 2013. For *H. schmidlyi*: two males had descended (scrotal) testicles, one female was lactating, and two were pregnant. For *R. microdon*: four males showed scrotal testicles and two females were pregnant. Only pregnant females were radio-tagged.

- Vertical stratification

Reithrodontomys microdon and *Habromys schmidlyi* (Fig. 2) were trapped in all three strata, but *R. microdon* was significantly more abundant at the canopy level (11-20 m; $\chi^2 = 7.97$, d.f. = 2, $P < 0.05$), whereas *H. schmidlyi* was significantly more abundant at the understory level (1-10 m; $\chi^2 = 17.28$, d.f. = 2, $P < 0.05$). *Peromyscus aztecus* was trapped in the two lowest strata (ground and understory) with significantly more captures at ground level ($\chi^2 = 5.4$, d.f. = 1, $P < 0.05$).

- Home-range

Nine individuals of *H. schmidlyi* (five males and four females) were captured and equipped with radio-transmitters at Taxco; the average home-range for males was 2.05 ac and 0.72 ac for females. Meanwhile, in Zacualpan, seven individuals (two males and five females) were radio-equipped, and average home-range size for both sexes was 0.91 ac. There were no significant differences in home-ranges between both populations (Mann-Whitney U test, $P = 0.15$).

For *R. microdon* three males and four females were radio-equipped in Taxco; the average home-range was 0.59 ac for males and 1.78 ac for females. However, in Zacualpan, only one male and four females were evaluated, average home-range for females was 1.1 ac and 1.24 for the only male. There were no significant differences in home-ranges between both populations (Mann-Whitney U test, $P = 0.56$).

Between sexes, we do not identified significant differences in home-range size (Mann-Whitney U test, $P = 0.63$). We also found no significant differences in home-range between breeding and non-breeding females of both species (Mann-Whitney U test, $P > 0.05$). Lastly, we did not find significant differences in the home-range sizes of both species ($t = -0.29$, $d.f. = 14$, $P = 0.61$).

Although home-range sizes did not differ between species, sexes or between breeding and non-breeding mice, we found differences in space use within and between species. In Taxco, six of the total estimated home-range areas for *R. microdon* were completely overlapping (three males and two females). These individuals were found exclusively on steep slopes. Furthermore, only three home-range areas of *H. schmidlyi* overlapped (one male and two females) in about 50% of their area. *H. schmidlyi* and *R. microdon* were never captured and/or radio-located at same tree at same time, however eight trees were used by the two species but at different times. *P. aztecus* was captured at base of one tree shared with the other two species, and in another tree shared only with *H. schmidlyi*.

In Zacualpan, six of the seven home-range estimated areas for *H. schmidlyi* and four of the five areas for *R. microdon* at Taxco were overlapped (two males and four females for *H. schmidlyi*; one male and three females for *R. microdon*). In both species, last individual was caught separated from the others and was tracked alone.

- *Habitat selection*

We found a preference for cloud forest over *Quercus* forest by both *H. schmidlyi* ($\chi^2 = 8.02$, $P = 0.035$) and *R. microdon* ($\chi^2 = 12.5$, $P = 0.013$). *P. aztecus* did not show any preference ($\chi^2 = 1$, $P = 0.5$). *H. schmidlyi* was mostly captured in *Cleyera velutina* trees (26% of total records), whereas *R. microdon* was primarily found in *Carpinus caroliniana* trees (59%) (Table 1).

The most informative classification and regression tree (CART) that predicted the highest presence probability (95%) for *H. schmidlyi* was related to the absence of *Asplenium monanthes*, *Platygyrium fusculetum* and *Metzgeria* sp, and the presence of *Fabronia ciliaris* and *Everniastrum* sp. (Table 2). The combination of variables with the highest probability of presence (96%) for *R. microdon* was the presence of *Brachythecium occidentale*, absence of *Tillandsia* sp., *Ctenidium malacodes* and *Sticta* sp., and presence of *Renauldia mexicana* (Table 2).

For *P. aztecus*, the combination of variables that explain the better probability of presence (79%) for *P. aztecus* with CART is absence of *C. velutina* and presence of *Prunus serotina*.

Discussion

Arboreal rodents are some of the few mammals which harvest, consume and/or disperse tree seeds before they drop on their own (Steele *et al.* 2006). This most likely makes arboreal mice very efficient dispersers, as has been shown for other small arboreal mammals (Amico and Aizen 2000; Dungan *et al.* 2002; Aizen 2003; Amico *et al.* 2009). Arboreal rodents are among the most important components in the mechanisms that determine patterns and processes

in forest regeneration such as seed survival and dispersal, which are two of the most important factors that affect tree regeneration and are the main ways by which trees expand their distribution across landscapes (Vander-Wall *et al.* 2005; Perea *et al.* 2011). The number and abundance of seed-dispersing and pollinating species also has an important role in regenerating ecosystems (see Schupp 1993; Williams *et al.* 2000). Given that only three rodent species were found and two of them are almost completely arboreal, they all must play an important role in maintaining the cloud forest.

Vertical stratification

The notable difference in captures by strata confirms the arboreal habits of *H. schmidlyi* and *R. microdon*, as mentioned in previous studies (Hooper 1952; Arellano *et al.* 2003; Müdespacher and Gaona 2005; Musser and Carleton 2005; Romo-Vázquez *et al.* 2005; Arellano *et al.* 2006; González-Ruiz *et al.* 2007; Reid and Vázquez 2010). However, the capture of *P. aztecus* in the canopy is uncommon, so we can argue to its semi-arboreal habits, although its habits have not been documented. *H. schmidlyi* is considered at least partly arboreal (Romo-Vázquez *et al.* 2005) and *R. microdon* has been considered as semi-arboreal (Hooper 1952; Arellano *et al.* 2003). However, our results show that both species are completely or at least predominantly arboreal. These results add primary information to our ecological knowledge of these species. While species accounts are usually descriptive, verbal accounts that do not represent quantitative measures of a species' ecological strategies (foraging strata, arboreal locomotion, etc), we provide quantitative support for designating *H. schmidlyi* and *R. microdon* as arboreal.

The notable vertical stratification shown by the three species is possibly due to the ability of *H. schmidlyi* and *R. microdon* to access understory or canopy resources, avoiding inter-specific competition that in turn allows to exploit the available resources in each strata (Gentile and Cerqueira 1995; Passamani 1995; Monteiro-Vieira and Monteiro-Filho 2003; Domínguez-castellanos *et al.*, 2007).

- *Home-range*

The number of individual radio-locations (n) obtained adequately represent the areas of activity observed (White and Garrot 1990; Seaman *et al.* 1999; Kernohan *et al.* 2001). The animals were located within the same area and some locations were repeated in both populations, which induced a small n and reflected the tendency of rodents to frequent the same sites during their daily activities (Gottesman *et al.* 2004). As White and Garrot (1990) and Kernohan *et al.* (2001) mentioned, it is important to take into account the biology of the species and the topography, as in the case of *R. microdon* in which most of our sampling was influenced by the steep-slopes where the mouse was found (Heezen and Tester 1967; Swihart and Slade 1985a; Swihart and Slade 1985b).

Primary productivity is correlated with satisfaction of energy requirements, which influences home-range sizes (McNab 1963; Coleman and Downs 2010). In high-productivity sites such as cloud forest (Rzedowski 1996), there are more resources (food, shelter and mates) for survival and reproduction (McLoughlin and Ferguson 2000; Maitz and Dickman 2001; Rader and Krockenberger 2006a; Rader and Krockenberger 2006b). This allows areas to have enough resources for more individuals, as shown in the home-range overlap of *R. microdon* and *H. schmidlyi* only in Zacualpan, where they also prefer cloud forest to *Quercus* forest.

In the case of *H. schmidlyi*, in Taxco we found home-range overlap only in the second survey, which occurred when reproductive activity was observed. In addition, males' home-ranges were larger than females' home-ranges. This is probably because males can enlarge their home-ranges encompassing many times those of females at times of breeding activity (Coleman and Downs 2010).

- *Habitat selection*

H. schmidlyi and *R. microdon* showed a clear preference for cloud forest, an ecosystem with a dense canopy (Rzedowski 1996) that allows both species to access arboreal resources and canopy areas by moving across horizontal

branches linking multiple trees (Mattingly and Jayne 2005; Thorpe and Crompton 2005; Rader and Krockenberger 2006a; Rader and Krockenberger 2006b). Cloud forests are also a very heterogeneous ecosystem with high productivity (Rzedowski 1996). Both of these characteristics facilitate the coexistence of the two species and even the presence of *P. aztecus* (Worton 1987; Franco *et al.* 2011; Andreo *et al.* 2012; Püttker *et al.* 2012).

The species *Fabronia ciliaris* and *Everniastrum* sp., which contribute to the presence of *H. schmidlyi*, are commonly found in semi-flat areas, where that mouse species was most common. On the other hand, the presence of *Brachythecium occidentale* and *Renauldia mexicana*, which contributes to an increase in the probability of presence in *R. microdon*, also were more commonly found in areas with strong-slopes, where that rodent species was more common. Through different preferences, species probably avoid interspecific competition as has been seen for many Cricetid and Heteromid rodents (M'Closkey 1976; Price 1978; Rader and Krockenberger 2006a; Rader and Krockenberger 2006b). In addition, the presence of the bryophytes *F. ciliaris* for *H. schmidlyi*, *B. occidentalis* and *R. mexicana* for *R. microdon* which have great water retaining capacity (Bonilla-Gómez, 2005), probably constitute part of the rodent species' diet (Bellocq 1987; Carey 1996).

The presence of *P. aztecus* is related to the absence of *C. velutina*, which is positively correlated with *C. caroliniana*. It is noteworthy that *C. velutina* is commonly used by *H. schmidlyi*, whereas *C. caroliniana* is the most frequently used tree species by *R. microdon*. Both tree species are characteristic of cloud forests (Rzedowski 1996). *P. aztecus* occurs in many ecosystems including dryer areas and those with few resources (Baker and Phillips 1965; Ramírez-Pulido *et al.* 2005). This might be the reason why the species does not show preference for any habitat type.

The remarkable difference obtained for habitat selection at broad and fine scale appears to be related to the amount of resources and primary productivity,

as well as home-range. Thus, the cloud forest turns out to be a very profitable habitat for different rodent species, allowing their coexistence.

Cloud forests also provide many ecosystem services such as carbon sequestration and water supply (Challenger 1998; Bonfil and Madrid 2006). Besides all those benefits, cloud forests contain some threatened species such as *C. caroliniana* (NOM-059-ECOL-2010), of which both arboreal mice are dependent on. Taking into account the sizes of both arboreal mice's home-ranges, which are bigger than those of other arboreal rodents (e.g. McNab 1963; Sáenz and Rica 1999; Hunt *et al.* 2004), it is important to take actions for preserving the trees remaining in the forest. Although there are no records of the sensitivity of *H. schmidlyi* and *R. microdon* to habitat disturbance, it is likely that the loss of even a few trees would affect their home-ranges and their survival, as they spend so much time on trees. If that happens, the cloud forest could be affected in a negative way by the loss of two important dispersers.

“Cerro del Huixteco” State Park currently has no protection program, and it would be very important to design a management plan to protect the environment by regulating human activities as a main goal, considering its closeness to the city of Taxco. This city is just seven kilometers away from the park and is also a very important tourist destination, which generates great human affluence to the park.

Given the benefits of the cloud forest for wild communities and for human societies, it is necessary to take actions for its conservation. A good way to do that is by preserving in the first place the two arboreal mice species, which probably are key elements in forest restoration.

Acknowledgements

Partial founding for this research was provided by Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT N. 216713). The authors thanks to H. Olguín-Monrroy, D. Ortiz-Ramírez, M. A. Salas-Télez, H.

Ortega-Salas, A. Cerón-Acosta, M. Cabrera-Garrido, M. Montes, A.A. Gutiérrez for their assistance at field. To S. Valencia-Ávalos, O. Alcántara-Ayala, A. González-Murillo, G. Salazar-Chávez for vascular terrestrial plant identification; M.E. Muñoz-Díaz de León for fern identification; C. Delgadillo-Moya, P. Peña-Rétez for bryophytes identification; G. Salazar-Chávez; M.A. Herrera-Campo for lichen identification and S. Sierra-Bazán for mushroom identification; L. Ochoa for their support on GIS and R platform.

References

- SEMARNAT (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT- 2010, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo.
- Aizen MA (2003) Influences of animal pollination and seed dispersal on winter flowering in a temperate mistletoe. *Ecology* 84:2613–2627.
- Amico GC, Aizen MA (2000) Mistletoe seed dispersal by a marsupial. *Nature* 408:929–930..
- Amico GC, Rodríguez-Cabal MA, Aizen MA (2009) The potential key seed-dispersing role of the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides*. *Acta Oecologica* 35:8–13.
- Andreo V, Provencal C, Levis S, Pini N, Enría, D, Polop J (2012) Summer–autumn distribution and abundance of the hantavirus host, *Oligoryzomys longicaudatus*, in northwestern Chubut, Argentina. *J Mammal* 93:1559–1568.
- Arellano E, Rogers DS, Cervantes FA (2003) Genic differentiation and phylogenetic relationships among Tropical Harvest Mice (Reithrodontomys: subgenus *Aporodon*). *J Mammal* 84:129–143..
- Arellano E, Rogers DS, González-Cózatl YFX (2006) Sistemática molecular del género *Reithrodontomys* (Rodentia: muridae). *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New Mexico Museum of Natural History and Science Bulletin. 32:27-35.

- August P V. (1983) The role of habitat complexity and heterogeneity in structuring tropical mammal communities. *Ecology* 64:1495–1507.
- Baker RH, Phillips J (1965) *Peromyscus ochraventer* in San Luis Potosí. *J Mammal* 46:337–338.
- Belloq MI (1987) Selección de hábitat de caza y depredación diferencial de *Athene cunicularia* sobre roedores en ecosistemas agrarios. *Rev Chil Hist Nat* 60:81–86.
- Bonfil H, Madrid L (2006) El pago por servicios ambientales en la cuenca de Amanalco-Valle de Bravo. *Gac Ecológica* 80:63–79.
- Calenge C (2015) Home Range Estimation in R: the adehabitatHR Package. 1–61.
- Carey AB (1996) Interactions of northwest forest canopies and arboreal mammals. *Northwest Sci* 70:72–78.
- Challenger A (1998) La zona ecológica templada húmeda (el bosque mesófilo de montaña). In: Challenger A (ed) Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/ Universidad Nacional Autónoma de México/Agrupación Sierra Madre, México, D. F., pp 443–518
- Coleman JC, Downs CT (2010) Does Home Range of the Black-Tailed Tree Rat (*Thallomys nigricauda* Thomas 1882) Change with Season Along an Aridity Gradient?. *African Zool* 45:177–188.
- Compton S, Craigh AJ, Waters IW (1996) Seed dispersal in an African fig tree: birds as high quantify, low quality dispersers?. *J Biogeogr* 23:553–563.
- De'Ath G, Fabricius K (2000) Classification and Regression Trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. *Ecology* 81:3178–3192.
- Domínguez-Castellanos Y, Pimentel F, Ceballos G (2007) Uso de hábitat de roedores arborícolas en la Selva Seca de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco. *Rev Mex Mastozoología* 11:21–40.
- Dungan RJ, O'Cain MJ, Lopez ML, Norton DA (2002) Contribution by possums to seed

rain and subsequent seed germination in successional vegetation, Canterbury, New Zealand. *N Z J Ecol* 26:121–128.

Estrada A, Coates-Estrada R (1985) A preliminary study of resource overlap between howling monkeys (*Alouatta palliata*) and other arboreal mammals in the tropical rainforest of Los Tuxtlas, México. *Am J Primatol* 9:27–37.

Fleming TH (1979) Do tropical frugivorous compete for food?. *Am Zool* 19:1157–1172.

Franco M, Quijano A, Soto-Gamboa M (2011) Communal nesting, activity patterns, and population characteristics in the near-threatened monito del monte, *Dromiciops gliroides*. *J Mammal* 92:994–1004.

Gentile R, Cerqueira R (1995) Movement patterns of five species of small mammals in a Brazilian restinga. *J Trop Ecol* 11:671–677.

González-Ruiz N, Ramírez-Pulido J, Genoways HH (2007) Review of the Harvest Mice (Genus *Reithrodontomys*) in the Mexican State of México. *West North Am Nat* 67:238–250.

Gottesman A, Krausman P, Morrison M, Petryszyn Y (2004) Movements and home range of brush mice. *Southwest Nat* 49:289–294.

Heezen KL, Tester JR (1967) Evaluation of radiotracking by triangulation with special reference to deer movements. *J Wildl Manage* 31:124–141.

Hooper ET (1952) A Systematic Review of the Harvest Mice (Genus *Reithrodontomys*) of Latin America. Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan, Michigan.

Hunt BJL, Morris JE, Best TL (2004) *Nyctomys sumichrasti*. *Mamm Species* 754:1–6.

Kernohan BJ, Gitzen RA, Millspaugh JJ (2001) Analysis of Animal Space Use and Movements. In: Millspaugh JJ, Marzluff JM (eds) *Radio Tracking and Animal Populations*, 1st edn. Academic Press, San Diego, California, p 474

M'Closkey RTM (1976) Community structure in sympatric rodents. *Ecology* 57:728–739.

MacArthur R, Recher H, Cody M (1966) On the relation between habitat selection and

- species diversity. *Am Nat* 100:319–332.
- Maitz WE, Dickman CR (2001) Competition and habitat use in native Australian *Rattus*: Is competition intense, or important?. *Oecologia* 128:526–538.
- Martínez M, Cruz R, Castrejón JF, et al (2004) Flora vascular de la porción guerrerense de la Sierra de Taxco , Guerrero , México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México* 75:105–189.
- Mattingly WB, Jayne BC (2005) The choice of arboreal escape paths and its consequences for the locomotor behaviour of four species of *Anolis* lizards. *Anim Behav* 70:1239–1250.
- McLoughlin PD, Ferguson SH (2000) A hierarchical pattern of limiting factors helps explain variation in home range size. *Ecoscience* 7:123–130.
- McNab BK (1963) Bioenergetics and the Determination of Home Range Size. *Am Nat* 97:133–140.
- Monteiro-Vieira E, Monteiro-Filho EL (2003) Vertical stratification of small mammals in the Atlantic rain forest of south-eastern Brazil. *J Trop Ecol* 19:501–507.
- Müdspacher C, Gaona S (2005) *Reithrodontomys microdon*. In: Ceballos G, Oliva G (eds) *Los mamíferos silvestres de México*. CONABIO y Fondo de Cultura Económica, México, D.F., pp 786–787
- Musser GG, Carleton MD (2005) Superfamily Muroidea. In: Wilson DE, Reeder DM (eds) *Mammal Species of the World*, 12th edn. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland,
- Passamani M (1995) Vertical stratification of small mammals in southeastern Brazil's Atlantica Hill Forest. *Mammalia* 65:505–508.
- Perea R, Miguel AS, Gil L (2011) Acorn dispersal by rodents: The importance of re-dispersal and distance to shelter. *Basic Appl Ecol* 12:432–439.
- Price M V (1978) The role of microhabitat in structuring desert rodent communities. *Ecology* 59:910–921.

- Püttker T, dos Santos de Barros C, Martins TK, et al (2012) Suitability of distance metrics as indexes of home-range size in tropical rodent species. *J Mammal* 93:115–123.
- Rader R, Krockenberger A (2006a) Does resource availability govern vertical stratification of small mammals in an Australian lowland tropical rainforest? *Wildl Res* 33:571–576.
- Rader R, Krockenberger A (2006b) Three-dimensional use of space by a tropical rainforest rodent, *Melomys cervinipes*, and its implications for foraging and home-range size. *Wildl Res* 33:577–582.
- Ramírez-Pulido J, Aguilar C, Castro-Campillo A (2005) *Peromyscus aztecus*. In: Ceballos G, Oliva G (eds) *Los mamíferos silvestres de México*. CONABIO y Fondo de Cultura Económica, México, D. F., pp 721–722
- Reid F, Vázquez E (2010) *Reithrodontomys microdon*. In: IUCN Red List Threat. Species. Accessed: August 16 2013.
- Romo-Vázquez E, León-Paniagua L, Sánchez O (2005) A new species of *Habromys* (Rodentia: Neotominae) from México. *Proc Biol Soc Washingt* 118:605–618.
- Rzedowski J (1996) Análisis Preliminar de la Flora Vasculare de los Bosques Mesófilos de Montaña de México. *Acta Botánica Mex* 35:25–44.
- Sáenz JC, Rica (1999) Movimientos y selección de micro-habitat de una rata arborícola *Ototylomys phyllotis* (Rodentia: Muridae) en un Bosque Seco Tropical. *Brenesia* 52:61–64.
- Schupp EW (1993) Quantity, quality, and the effectiveness of seed dispersal by animals. *Vegetatio* 107/108:15–29.
- Seaman DE, Millspaugh JJ, Kernohan BJ, Brundige GC, Raedeke KJ, Gitzen RA (1999) Effects of sample size on kernel home range estimates. *J Wildl Manage* 63:739–747.
- Shanahan M, Compton S (2000) Fig-eating by Bornean treeshrews: evidence for a role

as seed dispersers. *Biotropica* 32:759–764.

Steele M a., Manierre S, Genna T, Contreras GA, Smallwood PD, Pereira ME (2006) The innate basis of food-hoarding decisions in grey squirrels: evidence for behavioural adaptations to the oaks. *Anim Behav* 71:155–160.

Swihart RK, Slade NA (1985a) Influence of Sampling Interval on Estimates of Home-Range Size. *J Wildl Manage* 49:1019–1025.

Swihart RK, Slade NA (1985b) Testing For Independence of Observations in Animal Movements. *Ecology* 66:1176–1184.

Thorpe SKS, Crompton RH (2005) Locomotor ecology of wild orangutans (*Pongo pygmaeus abelii*) in the Gunung Leuser ecosystem, Sumatra, Indonesia: A multivariate analysis using log-linear modelling. *Am J Phys Anthropol* 127:58–78.

Ungar P (1996) Feeding height and niche separation in sympatric Sumatran monkeys and apes. *Folia Primatol* 67:163–168.

Vander-Wall SB, Kuhn KM, Beck MJ (2005) Seed removal, seed predation and secondary dispersal. *Ecology* 86:81–86.

Wells K, Pfeiffer M, Lakim MB, Linsenmair KE (2004) Use of arboreal and terrestrial space by a small mammal community in a tropical rain forest in Borneo, Malaysia. *J Biogeogr* 31:641–652.

White GC, Garrot RA (1990) *Analysis of Wildlife Radio Tracking Data*. Academic Press, San Diego, California

Williams PA, Karl BJ, Bannister P, Lee WG (2000) Small mammals as potential seed dispersers in New Zealand. *Austral Ecol* 25:523–532.

Wood BA, Cao L, Dearing MD (2010) Deer Mouse (*Peromyscus maniculatus*) Home-Range Size and Fidelity in Sage-Steppe Habitat. *West North Am Nat* 70:345–354.

Worton BJ (1987) A review of models of home range for animal movement. *Ecol Modell* 38:277–298.

Fig. 1 Radio-transmitter attached in individuals of *H. schmidlyi* and *R. microdon*.



Fig. 2 Number of individuals of each small mammal species trapped at every strata in "Cerro del Huixteco" State Park, Taxco, Guerrero, Mexico.

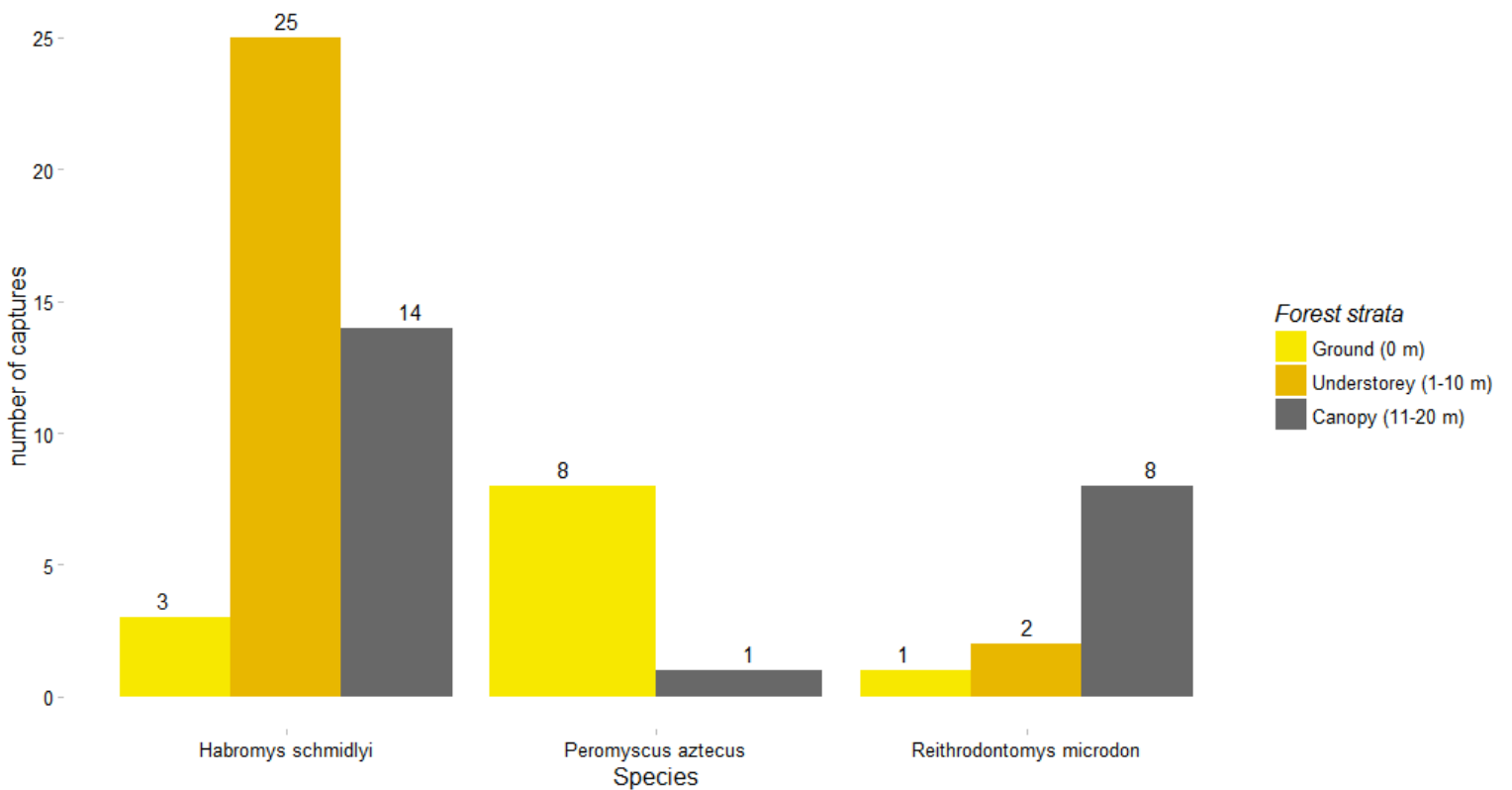


Table 1. List of total plant species characterized. *H* = species used by *H. schmidlyi*, *R* = species used by *R. microdon* RPA and *P* = species used by *P. aztecus* RPA. Numbers in parentheses indicate the percentage of registered arboreal rodents per tree species.

Group	Species	Rodent species (obs%)
Trees	<i>Carpinus caroliniana</i>	<i>H</i> (20), <i>R</i> (59) <i>P</i>
	<i>Clethra hartwegii</i>	<i>H</i> (11), <i>P</i>
	<i>Cleyera velutina</i>	<i>H</i> (26), <i>R</i> (6), <i>P</i>
	<i>Ilex discolor</i>	<i>H</i> (2), <i>R</i> (3)
	<i>Myrsine guianensis</i>	<i>H</i> (2), <i>R</i> (3)
	<i>Parathesis</i> sp.	<i>R</i> (6)
	<i>Pinus x pringlei</i>	<i>H</i> (4)
	<i>Quercus candicans</i>	<i>H</i> (2), <i>R</i> (3), <i>P</i>
	<i>Quercus crassifolia</i>	<i>H</i> (9), <i>R</i> (6), <i>P</i>
	<i>Quercus laurina</i>	<i>H</i> (11), <i>R</i> (6), <i>P</i>
	<i>Quercus obtusata</i>	<i>H</i> (2), <i>R</i> (3), <i>P</i>
	<i>Quercus scytophylla</i>	<i>H</i> (4)
	<i>Styrax argenteus</i>	<i>R</i> (3)

	<i>Ternstroemia lineata</i>	<i>H</i> ⁽⁴⁾ , <i>P</i>
	<i>Zinowiewia</i> sp.	<i>H</i> ⁽²⁾
Bryophytes	<i>Brachythecium occidentale</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Ctenidium malacodes</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Fabronia ciliaris</i> var. <i>polycarpa</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Macromitrium sharpii</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Plagiochila</i> sp.	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Platygyrium fuscoluteum</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Renauldia mexicana</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
Bromeliads	<i>Tillandsia</i> sp.	<i>H</i> , <i>R</i>
Cactus	<i>Aporocactus flagelliformis</i>	<i>H</i>
Ferns	<i>Asplenium monanthes</i>	<i>H</i> , <i>P</i>
	<i>Asplenium oblongatum</i>	<i>P</i>
	<i>Blechnum gracile</i>	<i>H</i> , <i>R</i>
	<i>Elaphoglossum</i>	<i>H</i>

	<i>gayanum</i>	
	<i>Pleopeltis interjecta</i>	<i>H, R</i>
	<i>Polypodium sanctae-rosae</i>	<i>H, R</i>
	<i>Woodwardia spinulosa</i>	<i>P</i>
Liverworts	<i>Metzgeria sp.</i>	<i>H, R</i>
Herbs	<i>Adiantum audicola</i>	<i>P</i>
	<i>Arbutus xalapensis</i>	<i>H, R</i>
	<i>Euphorbia sp.</i>	<i>H, P</i>
	<i>Iresine celosia</i>	<i>P</i>
	<i>Miconia mexicana</i>	<i>P</i>
	<i>Oreopanax xalapensis</i>	<i>H, R</i>
	<i>Parathesis sp.</i>	<i>P</i>
	<i>Phyllonoma laticuspis</i>	<i>H, P</i>
	<i>Pinguicola moranensis</i>	<i>H</i>
	<i>Prunus serotina</i>	<i>P</i>
	<i>Tibouchina sp.</i>	<i>P</i>

	<i>Vitis popenoei</i>	<i>R</i>
Fungi	<i>Hexagonia</i> sp.	<i>H</i>
	<i>Stereum</i> sp.	<i>R</i>
Lichens	<i>Everniastrum</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Flavopunctelia</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Leptogium</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Pannaria</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Sticta</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Usnea florida</i>	<i>H, R</i>
	<i>Usnea fragilescens</i>	<i>H, R</i>
Orqchids	<i>Jacquiniella cernua</i>	<i>H</i>
	<i>Pleurothallis</i> sp.	<i>H, R</i>
	<i>Prosthechea punctulata</i>	<i>H</i>
	<i>Rhynchostele cervantesii</i>	<i>H, R</i>
	<i>Stellis</i> sp.	<i>H, R</i>

Table 2. Contribution per variable to each rodent species' classification and regression tree (CART).

<i>H. schmidlyi</i>		<i>R. microdon</i>		<i>P. aztecus</i>	
Variable	Contribution	Variable	Contribution	Variable	Contribution
<i>A. monanthes</i>	0.35	<i>B. occidentale</i>	0.38	<i>C. velutina</i>	0.54
<i>P. fusculetum</i>	0.23	<i>Tillandsia</i> sp.	0.23	<i>P. serotina</i>	0.45
<i>F. ciliaris</i>	0.17	<i>Sticta</i> sp.	0.21		
<i>Metzgeria</i> sp.	0.17	<i>C. malacodes</i>	0.09		
<i>Everniastrum</i> sp.	0.08	<i>R. mexicana</i>	0.09		

Capítulo III. Evaluación de riesgo de extinción de *Habromys schmidlyi* de acuerdo al numeral 5.7 de la NOM-059-SEMARNAT-2010.

1. Datos generales del responsable de la propuesta

Pablo Francisco Colunga Salas

2. Nombre científico válido citando la autoridad taxonómica

Habromys schmidlyi (Romo-Vázquez, León-Paniagua y Sánchez 2005).

El sistema de clasificación taxonómica usado para proporcionar el nombre científico es el de Ramírez-Pulido J., N. González-Ruiz, A. L. Gardner y J. Arroyo-Cabrales. 2014. List of Recent Land Mammals of Mexico, 2014. SPECIAL PUBLICATIONS, Museum of Texas Tech University, 63:1-76.

2.1. Nombre común

- Ratón
- Ratón ciervo de Schmidly

2.2. Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia

Subphylum: Vertebrata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Cricetidae

Subfamilia: Neotominae

3. Motivo de la propuesta

Este taxón no está incluido en la lista de especies silvestres de la NOM-059-SEMARNAT-2010. Sin embargo, debido a su restringida distribución,

endemismo y perturbación de hábitat, debería ser incluida en algún tipo de categoría de protección especial. Además, ha sido reconocido por Colunga-Salas (2014) como una especie indicadora, estatus que le conferiría algún tipo de protección a la flora y fauna presente en los fragmentos de bosque mesófilo de montaña en los cuales se distribuye el ratón.

4. MER

Criterio A. Amplitud de la distribución del taxón en México.

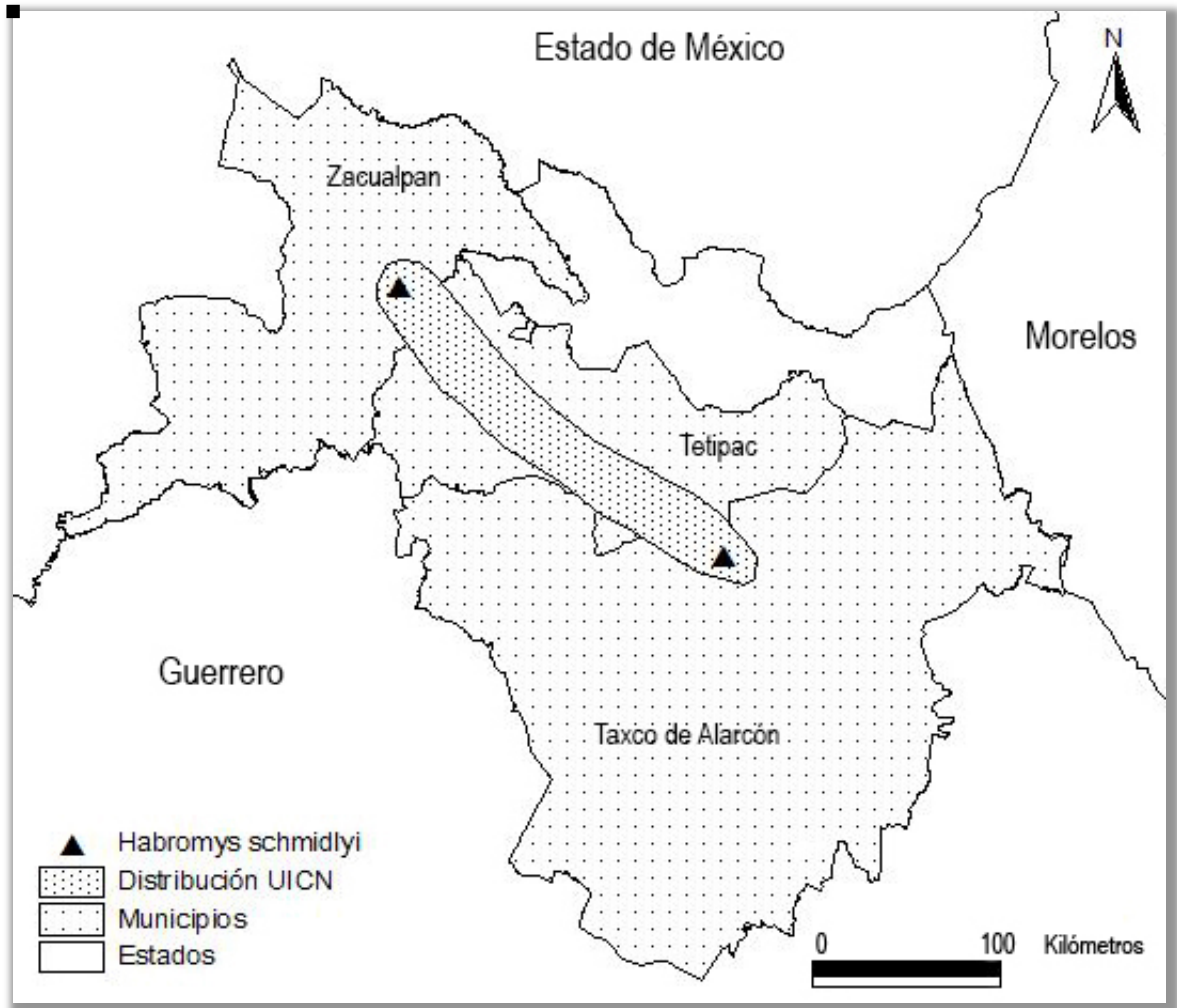
- Descripción de la distribución.
- Mapa.
- Cómo se hizo el mapa.
- Evaluación del tamaño relativo de la distribución.

Descripción de la distribución

La distribución general de esta especie únicamente abarca dos localidades en el Eje Neovolcánico Transversal, a pesar de haberse realizado un esfuerzo para ampliar su distribución (Colunga-Salas, 2014). La distribución descrita abarca únicamente dos parches de tramos variables, ambos en la Sierra de Taxco (Romo-Vázquez *et al.*, 2005). Las altitudes en que se ha registrado la presencia de la especie están entre los 1870 y los 2400 msnm (Romo-Vázquez *et al.*, 2005, Colunga-Salas, 2014).

Mapa

Área de distribución estimada de *H. schmidlyi*. Se ilustra el área propuesta por la IUCN (parte más densa), así como las dos localidades con registros directos.



Cómo se hizo el mapa

El mapa muestra en la parte sombreada más densa, la distribución aproximada de *Habromys schmidlyi* de acuerdo con el mapa propuesto por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés). A partir de dicho mapa, la especie podría encontrarse en un corredor que barca a los estados de Guerrero y Estado de México, en los municipios de Taxco de Alarcón y Tetipac en Guerrero, así como Zacualpan en el Estado de México (IUCN, 2008). Sin embargo, Colunga-Salas (2014) realizó una búsqueda de otra población de esta especie de ratón en la localidad de El Romerito, Taxco de Alarcón, localidad dentro de la distribución propuesta por la IUCN, sin embargo no se tuvo éxito en su búsqueda después de 10 días efectivos de

trampeo en árboles.

Con base en los trabajos realizados, en el mapa se muestran las únicas dos localidades (triángulos) para las cuales se tienen registros directos de la presencia de la especie (Romo-Vázquez *et al.*, 2005; León-Paniagua *et al.*, 2007; Colunga-Salas, 2014). Dichas localidades son Zacualpan, Estado de México y Parque Ecoturístico Estatal “Cerro del Huizteco”, Taxco de Alarcón.

Evaluación del tamaño relativo de la distribución

El área de distribución estimada de *H. schmidlyi* (calculada a partir del mapa) es de aproximadamente 253.12 km². Dicha área corresponde al 0.012 % del territorio nacional, de acuerdo al dato del INEGI (2014). **Dado este porcentaje, el valor para este criterio de *H. schmidlyi* es de 4.**

Criterio B. Estado del hábitat con respecto al desarrollo natural del taxón.

Antecedentes

H. schmidlyi se encuentra asociado, principalmente, con áreas en las que predomina el clima C(w2)(w) (Templado subhúmedo). El tipo de clima se obtuvo a partir de la Carta climática 1:1000000 del INEGI (disponible en: <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/recnat/clima/>).

Este ratón habita en planicies y topografía accidentada que termina en barrancos muy pronunciados (Colunga-Salas, 2014). Los tipos de vegetación que prevalecen en el área estimada de distribución son bosque de *Quercus* (con prevalencia de *Q. affinis*, *Q. scytophylla*, *Q. laurina*, *Q. seyatophylla* y *Q. castanea*) y bosques mesófilos de montaña (con prevalencia de *Carpinus caroliniana*, *Cleyera velutina*, *Clethra hartwegii* y *Ternstroemia lineata*) (Romo-Vázquez *et al.*, 2005; Colunga-Salas, 2014). Sin embargo, la selección y uso de hábitat por parte de *H. schmidlyi*, están más relacionados con el bosque mesófilo de montaña (Colunga-Salas, 2014).

De acuerdo al trabajo de Colunga-Salas (2014), el ratón es considerado con hábitos arbóreos especializados, por lo que es completamente dependiente de

los árboles para sus actividades diarias y reproducción. Además, es considerado como un posible dispersor de semillas de *C. hartwegii*.

Análisis diagnóstico del estado actual del hábitat

Al considerar la dependencia completa del ratón al estrato arbustivo, la calidad del hábitat, así como la calidad de los recursos forestales, la situación actual del taxón se puede analizar por separado para algunos de sus componentes (se comenta en cada inciso la estimación de la situación actual):

a) El bosque mesófilo de montaña es el tipo de vegetación más amenazado en México (Martínez *et al.*, 2009; SEMARNAT, 2012). La tasa de fragmentación de este ecosistema resulta ser la más alta, por lo que un 62% de la superficie remanente del bosque mesófilo (menos del 0.5% del territorio nacional) se encuentra en fragmentos menores a los 80 km² (Rzedowsky, 1996; Martínez *et al.*, 2009; SEMARNAT, 2012).

b) El bosque mesófilo de montaña en el cual se ha registrado al ratón, está catalogado como bosque mesófilo primario y es considerado como un área terrestre prioritaria para la conservación (CONABIO, 2010). Las principales amenazas que afectan a este parche de bosque mesófilo, de acuerdo a la CONABIO (2010) son altas presiones de deforestación por tala ilegal, actividad cuyo resultado aumenta la vulnerabilidad de la especie dados su hábitos arborícolas.

c) *C. caroliniana*, una de las especies en la cual se obtuvo un gran número de observaciones y una de las especies a partir de la cual se obtuvo la selección preferencial de *H. schmidlyi* hacia el bosque mesófilo de montaña, se encuentra bajo la categoría de "Amenazada" de la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Colunga-Salas, 2014).

d) El uso de hábitat del ratón, está enfocado hacia la presencia de *Fabronia ciliaris* y *Everniastrum* sp., especies relacionadas con el bosque mesófilo, las cuales, además pueden fungir como alimento para el ratón (Colunga-Salas, 2014).

Evaluación del estado actual del hábitat con respecto a las necesidades naturales del taxón

Este ratón no se ha encontrado en ambientes con características distintas con las antes descritas, lo cual hace que la calidad, cantidad y disponibilidad de recursos forestales específicos del bosque mesófilo donde habita el ratón (*C. caroliniana*, *C. velutina*, *C. hartwegii*, *Q. affinis* y *Q. scytophylla*), así como la alta tasa de fragmentación del bosque mesófilo y la distribución sumamente restringida del taxón sean **factores suficientes para ponderar un valor muy limitante u hostil, que representa un valor de 3.**

Criterio C. Vulnerabilidad biológica intrínseca del taxón

Antecedentes

La única información reportada para la especie se encuentra en el trabajo realizado por Colunga-Salas (2014). En dicho trabajo, se menciona que el ámbito hogareño promedio para los machos de *H. schmidlyi* es de 4745 ± 4228 m², mientras que el de las hembras es de 3788 ± 1131 m².

En cuanto a la reproducción de la especie, Colunga-Salas (2014) menciona que únicamente registró etapa reproductiva activa en los meses de marzo y abril. La actividad reproductiva estuvo caracterizada por hembras preñadas. De igual forma, en los mismos meses fueron registrados individuos juveniles. Finalmente, el autor menciona que es probable que existan dos etapas reproductivas al año, la primera a finales de la temporada de secas, con nacimientos a inicios de la temporada de lluvias y la segunda a finales de la temporada de lluvias, con nacimientos a inicios de la temporada de secas.

Colunga-Salas (2014), también comenta acerca de la posible alimentación de *H. schmidlyi*. En su trabajo se menciona que en todos los árboles en los cuales registró a la especie, habían semillas roídas y huecas de *C. hartwegii* y *C. caroliniana*.

Análisis diagnóstico del estado actual de la especie

Dado el ámbito hogareño y los patrones de este aspecto ecológico, es probable que la densidad poblacional de *H. schmidlyi* sea baja en ambas localidades. Además, de la vulnerabilidad intrínseca del taxón dada su especialidad arbórea y de selección y uso de hábitat la hacen vulnerable a la tala y fragmentación del hábitat.

La diagnosis del estado actual de la especie se basa principalmente en dos datos. El primero, en la distribución actual. El segundo, en un evidencia acerca del ámbito hogareño y su hábitos territoriales. Así mismo, se obtuvo toda la información publicada hasta el momento.

Evaluación de qué factores lo hacen vulnerable

El ámbito hogareño de *H. schmidlyi*, en comparación con otros trabajos publicados sobre ratones arborícolas es muy grande. Además, se infiere que la especie es posiblemente territorial, por lo que existe un territorio marcado y defendido por cada individuo. A través de estos datos, se puede inferir una baja densidad poblacional en las localidades.

Así mismo, los hábitos alimenticios de los que se tiene información, sugieren que la principal fuente de alimentación son bellotas de árboles característicos del bosque mesófilo. **Al considerar todo lo anterior, es posible que los ratones tengan una vulnerabilidad intermedia. Por ello, se decidió adjudicar el valor 2 al criterio C.**

Criterio D. Impacto de la actividad humana sobre el taxón

Factores de riesgo reales y potenciales

A nivel nacional, la deforestación es la principal causa de pérdida de biodiversidad y fragmentación de ecosistemas (SEMARNAT, 2012). De acuerdo con la FAO (2010), con una tasa de deforestación de 354 000 ha/año, México se sitúa en el lugar número siete de los países con mayor tasa de deforestación a nivel mundial, siendo el bosque mesófilo el ecosistema con la tasa de fragmentación más alta en México (Rzedowsky, 1996; Martínez *et al.*, 2009;

SEMARNAT, 2012). De acuerdo con estos datos, el principal factor de riesgo que afecta a *H. schmidlyi* es la fragmentación como consecuencia de la deforestación del hábitat.

Otra amenaza indirecta es el grado de interferencia de actividades humanas rutinarias y de turismo en las localidades conocidas para la especie. El Parque Ecoturístico Estatal “Cerro del Huizteco”, es un parque recreativo de libre acceso, con espacios desinados a fogatas y veredas que atraviesan el parque. Por otro lado, la localidad de Zacualpan se encuentra a pie de carretera, cercano a la cabecera municipal. Ambas localidades no cuentan con vigilancia y su acceso no está restringido en ningún momento. Además de las características antes mencionadas, se ha registrado fauna exótica como perros y gatos domésticos. Como es conocido, la fauna exótica es considerada una amenaza para la fauna nativa.

Las características propias de los lugares permiten el libre acceso a los bosques y su aprovechamiento sin reserva alguna, propiciando la alteración y modificación ecológica y estructural del ambiente necesario para la especie.

Análisis pronóstico de la especie

El pronóstico de la especie resulta preocupante debido a sus características demográficas y ecológicas. Por lo que la consideración de *H. schmidlyi* en la NOM-059-SEMARNAT resulta necesaria para confiarle un estatus de protección a nivel nacional.

Evaluación del impacto

En síntesis, las tendencias de distintas actividades humanas que inciden directamente e indirectamente sobre el número de individuos y estado de las poblaciones de *H. schmidlyi*, pueden considerarse de impacto medio y al parecer, son actividades que continúan en incremento. **Esto equivale a un valor de 4 puntos en el criterio D de la MER.**

Valor asignado total del MER

A = 4, B = 3, C = 2 y D = 4, con un total de 13. De acuerdo con el sistema de puntuación del MER, el ratón ciervo de Schmidlyi se debería considerar en el criterio *En Peligro de Extinción (P)* de la Norma Oficial Mexicana 059.

5. Relevancia de la especie

Al considerar los hábitos y aspectos biológicos, ecológicamente, *H. schmidlyi* es un taxón que podría tener un papel clave en los parches de bosque en los cuales se distribuye.

Colunga-Salas (2014), define que *H. schmidlyi* podría estar jugando un papel importante en el mantenimiento y funcionalidad del bosque mesófilo, como un dispersor de semillas, como especie indicadora de biodiversidad y de cambios ambientales, así como presa para otras especies como serpientes y aves.

A otro nivel, la protección y conservación de *H. schmidlyi*, estaría ayudando y favoreciendo la protección de flora y fauna nativos del bosque mesófilo, tales como *C. caroliniana*, orquídeas y tillandsia, salamandras, ranas, reptiles y aves de importancia biológica y estéticas. Además de favorecer la protección del bosque mesófilo ante efectos de deforestación y fragmentación.

6. Propuesta de medidas de seguimiento

Para propiciar la conservación de *H. schmidlyi*, se recomienda promover y hacer efectivas las proclamaciones de las regiones prioritarias para la conservación, pues dentro de las áreas propuestas por CONABIO (2010), de encuentra la subregión de la “Cuenca alta del Río Amacuzac”, región apartada de los demás parches de bosque mesófilo y dentro de la cual se encuentran las localidades que albergan a la especie de ratón de interés.

Con la protección y conservación de la subregión de la Cuenca alta del Río Amacuzac, se estaría protegiendo uno de los parches de bosque mesófilo primario, de acuerdo a la misma clasificación de la CONABIO (2010), así como especies enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT como es *C. caroliniana* y *Reithrodontomys microdon*.

Por otra parte, se sugiere promover programas de monitoreo en las poblaciones para evaluar la tendencia poblacional y estado del ecosistema. Deseablemente, estos monitoreos deberán tener un enfoque de evaluación periódica tomando en cuenta, preferentemente, aspectos como la presencia de individuos de la especie, densidades locales y estimaciones de tamaños poblacionales, composición general por sexos y edades, uso y selección de hábitat, datos sobre el éxito reproductivo y genética de poblaciones.

Las prioridades de conservación de esta especie de ratón, deberán de incluir evaluaciones en campo sobre el estado de las poblaciones, protección de las áreas donde se distribuye la especie, declaración e áreas terrestres prioritarias para la conservación, así como vigilancia por parte de las autoridades competentes en dichas áreas, minimizar el efecto de actividades de aprovechamiento forestal en la zona, así como educación ambiental.

7. Bibliografía

- Colunga-Salas, P. 2014. Ámbito hogareño y uso de hábitat de *Habromys schmidlyi* (Rodentia: Cricetidae). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 53 pp.
- CONABIO, 2010. El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible. México, D.F.
- FAO, 2010. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2010, Informe principal. Roma (disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/i1757s/i1757s.pdf>).
- INEGI. 2014. Referencias geográficas y extensión territorial de México. Recurso electrónico, disponible en: http://www.inegi.org.mx/inegi/spc/doc/internet/1-GeografiaDeMexico/man_refgeog_extterr_vs_enero_30_2088.pdf. Consultado el 04 de noviembre de 2014.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2008. *Habromys schmidlyi*. The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2014.3.

- León-Paniagua, L., A. G. Navarro-Sigüenza, B. E. Hernández-Baños y J. C. Morales, 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42(3): 653-664.
- Martínez, M. L. O. Pérez-Maqueo, G. Vázquez, G. Castillo-Campos, J. García-Franco, K. Mehlreter, M. Equihua y R. Landgrave. 2009. Effects of land use change on biodiversity and ecosystem services in tropical montane cloud forests of Mexico. *Forest Ecology and Management*, 258: 1856-1863.
- Ramírez-Pulido J., N. González-Ruíz, A. L. Gardner y J. Arroyo-Cabrales. 2014. List of Recent Land Mammals of Mexico, 2014. SPECIAL PUBLICATIONS, Museum of Texas Tech University, 63:1-76.
- Romo-Vázquez, E., L. León-Paniagua y O. Sánchez, 2005. A new species of *Habromys* (Rodentia: Neotominae) from Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118(3): 603-618.
- Rzedowski, J., 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. *Acta Botánica Mexicana*, 35: 25-44.
- SEMARNAT, 2012., Informe de la situación del medio ambiente en México: Compendio de estadísticas ambientales, indicadores clave y de desempeño ambiental. Edición 2012. http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12

8. Resumen

La evaluación de *Habromys schmidlyi* con el MER le otorga un valor de 13. De acuerdo con el sistema de puntuación del MER, el ratón debe ser considerada *en peligro de extinción (P)*.

Criterio A = 4. Distribución muy restringida. El área de distribución conocida y estimada de *H. schmidlyi* fue calculada a partir del mapa (anexo) es de aproximadamente 253.12 km², lo que equivale a 0.012 % del territorio nacional.

Criterio B = 3. Ambiente muy limitante u hostil. La calidad, cantidad y disponibilidad de ambientes con las características necesarias para la presencia

de la especie como áreas de bosque grandes con mucha cubierta arbórea y un clima templado subhúmedo, así como una preferencia hacia especies como *Carpinus caroliniana*, *Cleyera velutina* y especies del género *Quercus*, se consideran determinantes y a su vez limitantes para la presencia y permanencia de la especie. En general, se puede decir que el taxón se encuentra en una situación limitante debido al estado y a las presiones de su hábitat.

Criterio C = 2. Vulnerabilidad media. El ratón de Schmidlyi tiene un ámbito hogareño grande en comparación con otras especies de ratones arborícolas, además de ser posiblemente territorial y una densidad posiblemente baja, así como hábitos completamente arborícolas y una selección preferencial hacia el bosque mesófilo de montaña, le confieren un aspecto importante de vulnerabilidad.

Criterio D = 4. Alto impacto. Las tendencias hacia el incremento en las tasas de deforestación y fragmentación del bosque mesófilo, principal ecosistema usado por *H. schmidlyi*, así como la alta presencia y perturbación antropogénica, como el aprovechamiento de recursos forestales maderables, aunada a su distribución restringida y libre acceso a las localidades donde se distribuye la especie, inciden de manera directa e indirecta en el bienestar de las poblaciones y en una posible disminución de la densidad poblacional.

Las prioridades de conservación para esta especie deberían de incluir, preferentemente, evaluaciones en campo para reconocer el estado de las poblaciones, protección de las áreas donde se distribuye la especie, declaración e áreas terrestres prioritarias para la conservación, así como vigilancia por parte de las autoridades competentes en dichas áreas, minimizar el efecto de actividades de aprovechamiento forestal en la zona, así como educación ambiental.

DISCUSIÓN GENERAL

Este es el primer trabajo en el cual se utilizan datos genómicos para la evaluación de la diversidad genética de una especie de roedor endémico México. Es importante señalar que también es el primer trabajo en el cual se evalúa la diversidad genética de un roedor estrictamente arborícola (*H. schmidlyi*) con datos genómicos a nivel mundial.

Los análisis demuestran que *H. schmidlyi* presenta diversos patrones genéticos y ecológicos que ponen en peligro de extinción a esta especie, entre ellos su alta diferenciación genética interpoblacional, ámbito hogareño reducido, hábitos estrictamente arborícolas y preferencia por el bosque mesófilo (Marines-Macías et al. *enviado*; Colunga-Salas et al. *en preparación*).

La diversidad genética es una de las tres formas de biodiversidad reconocidas por la UICN, que requiere de gran atención debido a la amenaza que supone el cambio climático a nivel global, el cual ha mermado los patrones de disminución de diversidad genética en los últimos tiempos (Glowka et al. 1994; Reed y Frankham 2003). Desde este punto de vista, es importante recalcar que especies con distribución restringida son las más propensas a este efecto (Van de Zande et al. 2000; Ruíz-García 2001; Johansson et al. 2007; Castañeda-Rico 2008; Dixon et al. 2009).

Al analizar las dos poblaciones conocidas hasta el momento de *H. schmidlyi* se encontró una baja heterocigosidad esperada (H_E), así como un valor bajo de F_{it} y de F_{is} (en ambas poblaciones), lo cual indica un sistema de apareamiento al azar, todo esto como valores que disminuyen la estructura genética intra poblacional (Wright 1951, Weir y Cockerham 1984). Sin embargo, a nivel inter poblacional, se observa una alta estructura genética (G_{st} , F_{st} y el análisis de STRUCTURE), lo cual indica una elevada diferenciación genética inter poblacional (Weir y Cockerham 1984; Hartl y Clark 1997; Garner et al. 2005; Hedrick 2005; Hamilton 2009). Ambos resultados (a nivel intra e inter poblacional) muestran una disminución en la diversidad genética de *H. schmidlyi*.

Los patrones de diversidad genética estimados para *H. schmidlyi* son comunes en especies con poblaciones aisladas y pequeños tamaños poblacionales, así como especies consideradas como amenazadas o en peligro de extinción (Garner et al. 2005; Frankham et al. 2005; Frère et al. 2010; Castellanos-Morales et al. 2014; Espindola et al. 2014). Una de las causas más frecuentes que explican esta baja diversidad y alta estructura genética inter poblacional es el aislamiento por distancia, donde la distancia geográfica es el factor más importante para diferenciar genéticamente las poblaciones (Castellanos-Morales et al. 2014; Espindola et al. 2014), como puede ser el caso de las poblaciones de este ratón arborícola.

Otro factor que está asociado con la disminución de la diversidad genética es el ámbito hogareño (Garner et al., 2005; Wang et al. 2005; Castañeda-Rico et al. 2011). El ámbito hogareño estimado para *H. schmidlyi* en Zacualpan fue de 3682.63 m² tanto para hembras como para machos, similar y sin diferencias significativas (U Mann-Whitney, $P < 0.05$) al encontrado en Taxco por Colunga-Salas (2014) que fue de 8296.05 m² para los machos y 2913.73 m² para las hembras. Estos resultados en conjunto con la nula migración estimada entre poblaciones, obtenido a partir del test de migración mediante el método de Jost y por *Gst* indican un bajo o nulo flujo génico en las últimas generaciones entre ambas poblaciones de *H. schmidlyi* (Castellanos-Morales et al. 2014; Espindola et al. 2014).

Dado el reducido ámbito hogareño, el alto grado de endogamia, la preferencia hacía el bosque mesófilo y el alto grado de aislamiento de este tipo de vegetación y por ende de las poblaciones de *H. schmidlyi*, se podría considerar que ambas poblaciones actúan como islas oceánicas (Garner et al., 2005; Wang et al. 2005; Castañeda-Rico et al. 2011; Colunga-Salas 2014; Espindola et al. 2014), es decir, que ambas poblaciones guardan una riqueza genética única, lo cual implica un esfuerzo de conservación necesario para mantener la diversidad genética de la especie, ya que ambas poblaciones están genéticamente diferenciadas entre ellas.

Finalmente, dado el estado genético encontrado en las poblaciones de *H. schmidlyi* así como su preferencia por el bosque mesófilo y sus hábitos arborícolas se sugiere esta especie de roedor debe considerarse en la categoría de peligro de extinción por las autoridades nacionales mediante su inclusión en la NOM-059-SEMARNAT-2010.

CONCLUSIONES GENERALES

- *Habromys schmidlyi* es una especie de roedor que se distribuye únicamente en dos parches aislados de bosque mesófilo.
- La diversidad genética de esta especie de roedor presenta una tendencia decreciente.
- El ámbito hogareño, así como la nula migración entre poblaciones resulta en una alta diferenciación genética inter poblacional de *H. schmidlyi*.
- Los patrones ecológicos de *H. schmidlyi*, así como su baja diversidad genética, hacen que esta especie deba ser considerada en peligro de extinción por la norma mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010.

LITERATURA CITADA

Allendorf, F. W., G. Luikart y S. N. Aitken. 2012. Conservation and the genetics of populations. 2a Edición, John Wiley & Sons.

Álvarez-Castañeda, S. T., I. Castro-Arellano, T. Lacher and E. Vázquez. 2008. *Habromys schmidlyi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T136616A4318725.

<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T136616A4318725.en>

Consultado el 16 de Junio de 2016.

- Aranda, M., F. Botello y L. López-De Buen. 2012. Diversidad y datos reproductivos de mamíferos medianos y grandes en el bosque mesófilo de montaña de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, Jalisco-Colima, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3):778–784.
- Arenas, M., S. Mona, A. Trochet, A. S. Hanulova, M. Currat, N. Ray, L. Chikhi, R. Rasteiro, D. S. Schmeller y L. Excoffier. 2014. The scaling of genetic diversity in a changing and fragmented world. En: Henle K., S. G. Potts, W. E. Kunin, Y. G. Matsinos, J. Similä, J. D. Pantis. V. Grobelnik, L. Penev y J. Settele (Eds.). *Scaling in ecology and biodiversity conservation*. Pensoft Publishers, Sofia, 55-60.
- Avise, J. C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, 7:371–379.
- Beltrán-Sánchez, E., F. Mendoza-Quijano y W. C. Sherbrooke. 2005. Aspectos reproductivos del Camaleón vivíparo *Phrynosoma taurus* (Sauria: Phrynosomatidae) de Zumpango del Río, Guerrero. *Boletín de La Sociedad Herpetológica*, 13(1):37–41.
- Burt, W. H. 1943. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. *Journal of Mammalogy*, 24(3): 346-352.
- Carleton, M. D. 1989. Systematics and evolution. En: *Advances in the study of Peromyscus (Rodentia)*, G. L. Kirkland Jr. y J. N. Layne (eds.). Texas Tech University press, Lubbock, 7-141 pp.
- Carleton, M. D., O. Sánchez y G. Urbano-Vidales. 2002. A new species of *Habromys* (Muroidea: Neotominae) from México, with generic review of species definitions and remarks on diversity patterns among Mesoamerican small mammals restricted to humid montane forest. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 115: 488-533.
- Castañeda-Rico, S. S. 2008. Diversidad genética de *Habromys simulatus*, una especie endémica y restringida al bosque mesófilo de montaña.

- Tesis de Maestría. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 80 pp.
- Castañeda-Rico, S., L. León-Paniagua, L., L. A. Ruedas y E. Vázquez-Domínguez. 2011. High genetic diversity and extreme differentiation in the two remaining populations of *Habromys simulatus*. *Journal of Mammalogy*, 92(5):963-973.
- Cavalli-Sforza, L. L. y W. F. Bodmer. 1981. Genética de las poblaciones humanas. Editorial Omega, Barcelona.
- Ceballos, G., A. García y P. R. Ehrlich. 2010. The sixth extinction crisis loss of animal populations and species. *Journal of Cosmology*, 8:1821-1831.
- Ceballos, G. y O. Gisselle. 2005. Los mamíferos silvestres de México. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad y Fondo de Cultura Económica.
- Challenger, A. 1998. La zona ecológica templada húmeda (el bosque mesófilo de montaña). En: Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, pasado, presente y futuro, A. Challenger (ed.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/ Universidad Nacional Autónoma de México/ Agrupación Sierra Madre, México, D.F. 443-518 pp.
- Clutton-Brock, T. H. 1989. Mammalian mating system-review lectura. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 236:339-372.
- Colunga-Salas, P. 2014. Ámbito hogareño y uso de hábitat de *Habromys schmidlyi* (Rodentia: Cricetidae). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 53 pp.
- Colunga-Salas, P., T. Marines-Macías y L. León-Paniagua. Estado de conservación del último parche de bosque mesófilo de montaña en Guerrero, México. *en preparación*

- CONABIO, 2010. El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible. México, D.F.
- Davidson , D., M. J. Hamilton, A. G. Boyer, J. H. Brown y G. Ceballos. 2009. Multiple ecological pathways to extinction in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106:10702- 10705.
- Dixo, M., J. P. Metzger, J. S. Morgante y K. R. Zamudio. 2009. Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*, 142:1560-1569.
- Espindola S., A. D. Cuarón, O. E. Gaggiotti and E. Vázquez-Domínguez. 2014. High genetic structure of the Cozumel Harvest mice, a critically endangered island endemic: conservation implications. *Conservation Genetics*, 15:1393-1402.
- Fisher, D. O. y M. C. Lara, 1999. Effects of body size and home range on Access to mates and paternity in male bridled naitail walabies. *Animal Behaviour*, 58:121-130.
- Forcada, J. y J. I. Hoffman. 2014. Climate change selects for heterozygosity in a declining fur seal population. *Nature*, 511:462-465.
- Frankham R., J. Ballou y D. Briscoe. 2005. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Frère C. H., M. Krützen, J. Mann, R. C. Connor, R. Bejder, W. B. Sherwin y G. H. Orians. 2010. Social and genetic interactions drive fitness variation in a free-living dolphin population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(46):19949-19954.
- Glowka L., F. Burhenne-Guilmin, H. Synge, J. A., McNeely y L. Gündling. 1994. *A Guide to the Convention on Biological Diversity*, IUCN Gland and Cambridge XII, 161pp.

- Hamilton, M. B. 2009. Population genetics. Wiley-Blackwell, Oxford, Inglaterra.
- Hartl D. L. and A. G. Clark. 1997. Principles of population genetics. 3rd Edition, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Hedrick, P. W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59:1633-1638.
- Gasca-Pineda, J., I. Cassaigne, R. A. Alonso y L. E. Eguiarte. 2013. Effective population size, genetic variation, and their relevance for conservation: the bighorn sheep in Tiburon Island and comparisons with managed artiodactyls. *PLoS ONE* 8(10): e78120.
- Garner A., J. L. Rachlow and L. P. Waits. 2005. Genetic diversity and population divergence in fragmented habitats: conservation of Idaho ground squirrels. *Conservation Genetics*, 6:759-774.
- Johansson, M., C. R. Primmer y J. Merila. 2007. Does habitat fragmentation reduce fitness and adaptability? A case study of the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Ecology*, 16:2693-2700.
- Kirchman, J. J., L. A. Whittingham y F. H. Sheldon. 2000. Relationships among Cave Swallow populations (*Petrochelidon fulva*) determined by comparisons of microsatellite and cytochrome b data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(1):107–121.
- León-Paniagua, L., A. G. Navarro-Sigüenza, B .E. Hernández-Baños y J. C. Morales, 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42(3):653-664.
- López-Pérez, Y., J. D. Tejero-Díez, A. N. Torres-Díaz e I. Luna-Vega. 2011. Flora del bosque mesófilo de montaña y vegetación adyacente en Avándaro, Valle de Bravo, Estado de México, México. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 88:35–53.
- Loretto, D. y M. V. Viera. 2005. The effects of reproductive and climate seasons

- on movements in the black-eared opossum (*Didelphis aurita* Weid-Neuwied, 1826). *Journal of Mammalogy*, 86:287-293.
- Mace, G., H. Masundire y J. Baillie. 2005. Biodiversity. En: *Ecosystems and Human well-being: current state and trends*, R. Hassan, R. Scholes y N. Ash (eds.). Findings of the Condition and Trends Working Group of the Millennium Ecosystem Assessment, Island Press, Washington, E.U.A. 77-122 pp.
- Marines-Macías T., P Colunga-Salas, L. D. Verde-Arregoitia, E. Naranjo y L. León-Paniagua. Arboreal habits: space use by two rodent species in a cloud forest. *Biodiversity and Conservation* (enviado).
- Martínez, M. L. O. Pérez-Maqueo, G. Vázquez, G. Castillo-Campos, J. García-Franco, K. Mehlreter, M. Equihua y R. Landgrave. 2009. Effects of land use change on biodiversity and ecosystem services in tropical montane cloud forests of Mexico. *Forest Ecology and Management*, 258:1856-1863.
- Ostfeld, R. S. 1990. The ecology of territoriality in small mammals. *Trends in Ecology and Evolution*, 5:411-415.
- Pérez-Lustre, M., R. G. Contreras-Díaz y A. Santos-Moreno. 2006. Mamíferos del bosque mesófilo de montaña del municipio de San Felipe Usila, Tuxtepec, Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Mastozoología*, 10:29-40.
- Reed D. H. y R. Frankham. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17(1): 230-237.
- Romo-Vázquez, E., L. León-Paniagua y O. Sánchez. 2005. A new species of *Habromys* (Rodentia: Neotominae) from Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118(3): 603-618.

- Ruiz-Jiménez, C. A., O. Téllez-Valdés e I. Luna-Vega. (2012). Clasificación de los bosques mesófilos de montaña de México: afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(4), 1110–1144.
- Ruiz-García, M. 2001. Diversidad genética como herramienta de zonificación ambiental: estudios moleculares (microsatélites) en el caso de primates y félidos neotropicales comportan una nueva perspectiva. En: Zonificación ambiental para el ordenamiento territorial en la Amazonia colombiana. Libro de memorias, L. Amazonas. Instituto Amazónico de Investigaciones (Imani)/ Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá, D.C., 84-110 pp.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. México, D.F, Limusa.
- Rzedowski, J. 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. *Acta Botánica Mexicana*, 35: 25-44.
- SEMARNAT, 2012., Informe de la situación del medio ambiente en México: Compendio de estadísticas ambientales, indicadores clave y de desempeño ambiental. Edición 2012. http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12
- Spencer, S. R., G. N. Cameron y R. K. Swihart. 1990. Operationally defining home range: Temporal dependence exhibited by hispid cotton rats. *Ecology*, 71(5):1817-1822.
- Van de Zande L., R. C. Van Apeldoorn, A. F. Blijdenstein, D. De Jong, W. Van Delden y R. Bijlma. 2000. Microsatellite analysis of population structure and genetic differentiation within and between populations of the rootvole, *Microtus oeconomus* in the Netherlands. *Molecular Ecology*, 9: 1651-1656.
- Vázquez-Domínguez, E., A. Mejía-Puente y R. Vega. 2009. *Oryzomys couesi* en el sureste de México: estimaciones genéticas y filogeográficas. En: 60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM. Aportaciones al Conocimiento y COnservación de los mamíferos

- mexicanos, F. A. Cervantes, J. Vargas-Cuenca y Y. Hortelano-Moncada (comps.). Instituto de Biología, UNAM, México, 197-211 pp.
- Vega, R., E. Vázquez-Domínguez, A. Mejía-Puente, A. D. Cuarón. 2007. Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biological Conservation*, 137:201-222.
- Wang Y., D. A. Williams y M. S. Gaines. 2005. Evidence for a recent genetic bottleneck in the endangered florida keys silver rice rat (*Oryzomys argentatus*) revealed by microsatellite DNA analyses. *Conservation Genetics*, 6:575–585.
- Weir B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6):358-1370.
- Wood, B. A., L. Cao y M. D. Dearing. 2010. Deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) home-range size and fidelity in sage-steppe habitat. *Western North American Naturalist*, 70(3):345-354.
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annual Eugen*, 15:323-354.