



El Colegio de la Frontera Sur

Efecto de la estructura del paisaje en la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821: un enfoque espacialmente explícito

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Con orientación en Manejo y Conservación de los Recursos Naturales

Por

Elida María Leiva González

2018



ECOSUR El Colegio de la Frontera Sur

San Cristóbal de las Casas, 27 de junio de 2018.

Las personas abajo firmantes, miembros del jurado examinador de:

Elida María Leiva González

hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada

**Efecto de la estructura del paisaje en la diversidad genética de
Artibeus jamaicensis Leach, 1821: un enfoque espacialmente
explícito**

para obtener el grado de **Maestro (a) en Ciencias en Recursos
Naturales y Desarrollo Rural**

	Nombre	Firma
Director/a	Dr. Darío Alejandro Navarrete Gutiérrez	_____
Asesor/a	Dra. Lorena Ruiz Montoya	_____
Asesor/a	Dr. José Antonio Santos Moreno	_____
Sinodal adicional	Dra. Ana María del Consuelo Lorenzo Monterrubio	_____
Sinodal adicional	Dra. Bárbara Cruz Salazar	_____
Sinodal suplente	Dra. Gabriela Castellanos Morales	_____

A mis padres, Luis y Aurita.

A mis hermanos, Paco y Astrid,

y mis sobrinos, Vale y Sebas.

A Cris, mi compañero.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, quiénes a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) me permitieron llevar a cabo estudios de posgrado en este hermoso país.

Al Dr. Darío Navarrete, por su apoyo y confianza a lo largo de este proyecto de tesis, por hacer la relación director-estudiante tan amena. A los asesores, Dra. Lorena Ruiz y Dr. Antonio Santos, por su apoyo en todo momento y por ser guías en este proceso. A las sinodales, Dra. Consuelo Lorenzo, Dra. Bárbara Cruz Salazar y Dra. Gabriela Castellanos, por sus valiosos comentarios que ayudaron a mejorar este documento. A la Bióloga Maricela García, por las enseñanzas, paciencia y por siempre acudir al llamado de auxilio en el laboratorio.

A todo el personal del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), en especial a: Ing. Odeta Cervantes, Biólogo Alejandro León, Don Robert, Don Juan y Don Guayo por facilitar siempre las visitas al área de estudio. Al arqueólogo Gabriel Lalo y demás autoridades del Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH), por los permisos otorgados para trabajar en la Zona Arqueológica de Chinkultic. A todas las personas que amablemente permitieron el trabajo en sus propiedades: Doña Josefina y su hijo Alejandro, Don Pancho y familia, autoridades ejidales de la Colonia Hidalgo y las comunidades de Nueva Rosita y Tzicumaltic. A Don Carlos y familia por su apoyo en las salidas de campo, pero sobre todo por la amistad.

A la organización IDEA WILD por el financiamiento otorgado para la secuenciación de las muestras. A ECOSUR por abrirme sus puertas y permitirme ser parte de esta institución, asimismo por la beca del programa de apoyo de tesis de maestría (PATM). A la Colección Mastozoológica ECOSUR, unidad SCLC por el préstamo de equipo y donación de material.

Al Biólogo Jorge Bolaños, por todo su apoyo, incluso desde antes que llegara a la institución. A Hermilo Cruz por su ayuda en la búsqueda de material bibliográfico y por su amistad. A Susi, Mercedes y Aurora de Servicios Escolares, por su paciencia enorme con todos los trámites. A Fredi, Juan Carlos y Rolando por su ayuda durante los muestreos. A Cristian por plantar la semillita de este proyecto y por ser parte de él en todas sus etapas.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
La transformación del paisaje: pérdida y fragmentación de bosques.....	2
Diversidad genética.....	4
Estructura genética.....	5
ADN mitocondrial como marcador molecular.....	6
Erosión genética como consecuencia de la transformación del paisaje.....	8
Murciélagos como modelo de estudio.....	10
ANTECEDENTES	13
Estudios sobre los efectos de la transformación del paisaje sobre murciélagos.....	13
<i>Artibeus jamaicensis</i> : generalidades.....	14
<i>Artibeus jamaicensis</i> : diversidad y estructura genética.....	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Área de estudio y sitios de muestreo.....	18
Trabajo de campo.....	19
Caracterización del paisaje.....	21
Procesamiento de imágenes satelitales.....	21
Cálculo de métricas de composición y configuración de los paisajes.....	22
Trabajo de laboratorio.....	24
Extracción, amplificación y secuenciación.....	24
Análisis de diversidad genética.....	25

Análisis de estructura genética	25
Análisis de datos	27
Análisis de partición jerárquica	27
Correlaciones de Spearman	28
RESULTADOS	28
Caracterización de los paisajes.....	28
Diversidad genética.....	31
Estructura genética	33
Efecto de la estructura del paisaje sobre la diversidad genética.....	37
DISCUSIÓN.....	40
Diversidad genética.....	40
Estructura genética	41
Efecto de la estructura del paisaje sobre la diversidad genética.....	42
El flujo de genes en el ADN mitocondrial	44
La importancia de la escala espacial.....	45
Implicaciones para la conservación.....	46
CONCLUSIONES.....	48
RECOMENDACIONES	49
LITERATURA CITADA	50
ANEXOS	63

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localización geográfica del área de estudio y los sitios de muestreo de *Artibeus jamaicensis* en el municipio de La Trinitaria, Chiapas..... 19
- Figura 2.** Clasificación de las clases de cobertura/uso del suelo en el área de estudio. En el acercamiento se indican las ventanas de análisis de 1,000 y 1,500 m de radio alrededor de los sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej)..... 31
- Figura 3.** Red de haplotipos únicos identificados para *A. jamaicensis* a partir de 72 secuencias de ADNmt de la región control mediante el algoritmo Median-Joining (MJ). Cada círculo (nodo) representa un haplotipo único, el tamaño es proporcional al número de individuos que presentan un haplotipo dado, los colores representan los sitios de muestreo. Los círculos de color negro, denominados vectores medios, son interpretados como posibles haplotipos ausentes o no muestreados. Los pasos mutacionales están representado por las líneas sobre las conexiones entre dos haplotipos. 35
- Figura 4.** Porcentaje de contribución independiente de cada atributo del paisaje: porcentaje (%) de bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y bosque total (Btotal), ENN (distancia Euclidiana al vecino más cercano), TE (borde total) y SPLIT (índice de división) de Btotal sobre la diversidad de haplotipos, Hd (barras en negro) y diversidad de nucleótidos, π (barras en gris) en los buffers de 1,000 m de radio (Buffer 1). Los atributos con contribuciones significativas ($z \geq 1.65$) se indican con un asterisco (*). La dirección de la correlación se indica como positiva [+] o negativa [-]..... 38
- Figura 5.** Porcentaje de contribución independiente de cada atributo del paisaje: porcentaje (%) de bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y bosque total (Btotal), ENN (distancia Euclidiana al vecino más cercano), TE (borde total) y SPLIT (índice de división) de Btotal sobre la diversidad de haplotipos, Hd (barras en negro) y diversidad de nucleótidos, π (barras en gris) en los buffers de 1,500 m de radio (Buffer 2). Los atributos con contribuciones significativas ($z \geq 1.65$) se indican con un asterisco (*). La dirección de la correlación se indica como positiva [+] o negativa [-]..... 39

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Resultados de los cálculos de las métricas de composición y configuración para cada sitio de muestreo en la ventana espacial de 1,000 m de radio (buffer 1) para las clases: bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y la unión de estas dos clases (Btotal)..... 29
- Tabla 2.** Resultados de los cálculos de las métricas de composición y configuración para cada sitio de muestreo en la ventana espacial de 1,500 m de radio (buffer 2) para las clases: bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y la unión de estas dos clases (Btotal)..... 30
- Tabla 3.** Estimadores de diversidad genética a partir de un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial de *A. jamaicensis* por sitio de muestreo y en total..... 33
- Tabla 4.** Valores de Φ_{ST} pareados entre los seis sitios de muestreo de *A. jamaicensis*, basados en un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial (parte inferior de la matriz). Las distancias geográficas en kilómetros entre los sitios se indican en la parte superior de la matriz..... 34
- Tabla 5.** Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) que divide la variación genética total dentro y entre poblaciones, para un grupo de seis poblaciones de *A. jamaicensis*..... 34
- Tabla 6.** Resultados del análisis espacial de la varianza molecular (SAMOVA). Se indican el número de grupos (K) y las configuraciones de las poblaciones, los estadísticos Φ : Φ_{CT} entre grupos, Φ_{SC} entre poblaciones dentro de grupos, Φ_{ST} dentro de poblaciones, los valores P asociados y el porcentaje de variación de cada componente..... 37

RESUMEN

Se asume que los murciélagos debido a su capacidad de vuelo no son afectados de forma negativa por la pérdida y fragmentación de bosques, esto en términos de riqueza y abundancias. Sin embargo, estudios recientes han encontrado evidencias de respuestas negativas a la fragmentación del paisaje sobre la diversidad genética de algunas especies de murciélagos filostómidos. En específico, estos estudios han encontrado una respuesta negativa a una escala geográfica pequeña y en matrices dominadas por prácticas agrícolas. El objetivo principal del presente estudio fue evaluar atributos de la estructura del paisaje (composición y configuración) que podrían estar influenciando la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821 (Chiroptera: Phyllostomidae) en un área caracterizada por la presencia de extensos terrenos agrícolas. El estudio se llevó a cabo en un área que incluye al Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) y fragmentos boscosos ubicados en sus alrededores.

A través de secuencias de la región control de ADN mitocondrial se estimó la diversidad genética de poblaciones de *A. jamaicensis* en el área de estudio, la cual se relacionó con atributos del paisaje obtenidos a partir de la caracterización con métricas que describen aspectos de composición y configuración, como el porcentaje de bosque y el grado de aislamiento de los fragmentos de bosque. Para determinar esta posible relación, se empleó un análisis exploratorio que permitió conocer la contribución independiente de cada atributo del paisaje sobre la diversidad genética. Se encontró que aspectos relacionados con la configuración de los paisajes (cantidad de borde en los paisajes), presentaron contribuciones significativas sobre diversidad genética.

Palabras clave: ADNmt, estructura genética, genética del paisaje, fragmentación, configuración del paisaje.

INTRODUCCIÓN

La transformación del paisaje: pérdida y fragmentación de bosques

La pérdida y la fragmentación de hábitats son consideradas de las causas principales de pérdida de diversidad biológica y degradación de ecosistemas a nivel mundial (Wilson et al. 2016). La pérdida y fragmentación de bosques involucra la reducción progresiva y la subdivisión de estos hábitats a lo largo del tiempo, resultando en la modificación de la estructura y la función de los paisajes (McGarigal et al. 2005). Ambos procesos (pérdida y fragmentación) están interrelacionados y suelen ocurrir de manera simultánea (Fahrig 2003). Sin embargo, afectan de forma distinta a la diversidad biológica, de modo que distinguir entre sus efectos tiene implicaciones importantes en Biología de la Conservación (Hadley y Betts 2016). Evidencia empírica sugiere que los efectos de la pérdida de bosques sobre la diversidad biológica, son más grandes y en general negativos, en comparación con la fragmentación de los mismos, cuyos efectos pueden llegar a ser positivos o negativos (Fahrig 2003).

La transformación del paisaje por la acción humana, particularmente por expansión agrícola y urbanización, es la causa moderna más importante de pérdida y fragmentación de hábitats, incluidos los bosques (Lindenmayer y Fisher 2006). Desde 1990 estas dos actividades, expansión agrícola y urbanización, han llevado a una pérdida sin precedentes de bosques tropicales (Achard et al. 2014). La transformación del paisaje puede ser conceptualizada a través del modelo de islas, basado en la Teoría de Biogeografía de Islas de MacArthur y Wilson (1967). Este modelo extrapola el concepto de “insularidad” a paisajes transformados, en donde los remanentes de bosque (en adelante denominados fragmentos) son considerados islas en un “mar” de terrenos modificados (usos del suelo que sustituyen a la vegetación original) que son interpretados como una matriz que rodea a los fragmentos (Bennett y Saunders 2010).

El modelo de fragmento-corredor-matriz (Forman y Godron 1986) establece que los fragmentos son áreas de diferentes tamaños y formas, que ocurren a diferentes escalas espaciales y temporales. La matriz es el elemento más extenso y el más conectado, por lo que juega un papel dominante en el funcionamiento de los paisajes (e.g. en los flujos de energía, materiales y especies) (Forman y Godron 1986). Los

corredores son los elementos lineales dentro de los paisajes que pueden ser definidos de acuerdo a su estructura, función o ambos. Por ejemplo, éstos pueden clasificarse como corredores que proporcionan hábitat temporal o permanente, como aquellos que facilitan o impiden el movimiento y los que modifican el funcionamiento de la matriz circundante (McGarigal 2015). Este modelo es considerado el más popular para representar el paisaje y constituye un paradigma que influenció la manera de entender la transformación del paisaje (Bennett y Saunders 2010).

La transformación del paisaje¹ ocasiona principalmente dos efectos sobre los bosques: reducción del área total y distintos arreglos espaciales de los fragmentos de bosque, en otras palabras, cambios en la composición y la configuración, dos aspectos conceptualmente distintos de la estructura del paisaje (Hadley y Betts 2016; Wilson et al. 2016). En general, el primer aspecto se refiere a características asociadas a la presencia y cantidad en el paisaje de determinada clase de cobertura o uso del suelo (*e.g.* bosque) y el segundo a la distribución espacial de los fragmentos (McGarigal 2015). Procesos ecológicos críticos relacionados con el mantenimiento de la diversidad biológica, la salud de los ecosistemas y procesos evolutivos pueden verse alterados como consecuencia de cambios en la estructura del paisaje (McGarigal y Marks 1995).

Los efectos de la transformación del paisaje pueden ser vistos desde distintos niveles de organización biológica, como por ejemplo cambios en la frecuencia de genes dentro de poblaciones (Bennett y Saunders 2010). En las últimas décadas se ha desarrollado un enfoque que integra teoría y métodos analíticos de la genética de poblaciones y la ecología del paisaje (Manel et al. 2003; Holderegger y Wagner 2008). Este enfoque es la genética del paisaje, definida como el estudio que combina la genética de poblaciones y la ecología del paisaje para cuantificar explícitamente los efectos de la composición y configuración del paisaje, así como la calidad de la matriz sobre procesos microevolutivos como flujo génico y deriva génica, haciendo uso de datos genéticos neutrales o adaptativos (Holderegger y Wagner 2008).

En genética del paisaje, el paisaje se considera desde la percepción y la respuesta de determinada especie a su contexto ambiental. Los organismos responden a la

¹ Lindenmayer y Fischer (2006) sugieren utilizar “transformación del paisaje” para referirse a los efectos conjuntos de la pérdida y fragmentación de los bosques.

estructura del paisaje en su propio conjunto de escalas espaciales y temporales, en función de sus capacidades inherentes (e.g. capacidad de dispersión) y su sensibilidad al cambio ambiental, por lo que la respuesta a perturbaciones, como la pérdida y fragmentación de hábitats no sólo es especie-específica sino que también contexto-específica (Balkenhol et al. 2016).

Diversidad genética

La diversidad genética es definida como cualquier medida que cuantifique la magnitud de la variabilidad genética (Hughes et al. 2008). Entendiendo a la variabilidad genética como la variación del material genético dentro un individuo, una población o un área geográfica. Las fuentes principales de la variación genética son las mutaciones, el flujo génico, la recombinación, la deriva génica y la selección natural (Waits y Storfer 2016).

La variación genética puede ser neutral o adaptativa. El primer tipo se refiere a la variación estimada en genes (o *loci*) neutrales, es decir, aquellos que tienen poco o nulo efecto sobre la adecuación (supervivencia y reproducción). Por el contrario, el segundo tipo de variación se estima en caracteres fenotípicos (o rasgos cuantitativos) que se asume tienen un efecto en la adecuación y por lo tanto se encuentran bajo selección (Holderegger et al. 2006; Waits y Storfer 2016). El estimar la variación genética en rasgos cuantitativos representa un desafío metodológico, pues los fenotipos en este caso son determinados por múltiples *loci* y el ambiente. Entre los ejemplos de *loci* responsables de rasgos cuantitativos que han sido implementados para estudiar la variabilidad genética adaptativa, se encuentran algunos *loci* del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) empleados de manera exitosa en varias especies de vertebrados (Boulding 2008).

La variación genética neutral es de mucha utilidad para evaluar procesos que ocurren a escala de paisaje, debido a que aun cuando los genes no tienen una función o expresión conocida, son afectados principalmente por factores como la deriva génica y el flujo génico (Holderegger et al. 2006). La variación genética neutral puede ser estimada a través de marcadores moleculares, los cuales a pesar de diferir con respecto al tipo de datos que generan (e.g. dominantes o co-dominantes), el grado en el que detectan la variación y los modos de transmisión (e.g. uniparental o biparental), la mayoría tienen en

común que son esencialmente neutrales², es decir que no hay evidencia de que la selección natural esté involucrada en la variación de los *loci* estudiados (Holderegger et al. 2006; Höglund 2009).

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) reconoce a la diversidad genética como uno de los tres niveles de diversidad biológica: diversidad de genes, de especies y de ecosistemas, y por lo tanto, la incluye dentro de las tres prioridades de conservación a nivel mundial (Frankham et al. 2002). Mientras la diversidad biológica contribuye al mantenimiento de la integridad de los ecosistemas, la contribución de la diversidad genética va desde el mantener la adecuación individual, el potencial evolutivo de las especies y la estabilidad de los ecosistemas (Frankham 2010).

Estructura genética

La forma en la que se organiza la variación genética en el espacio geográfico y tiempo, es lo que se conoce como estructura genética (Garrido-Garduño y Vázquez-Domínguez 2013). La diferenciación o subdivisión genética de una población es el resultado de la distribución espacial desigual de la variación genética de la especie, lo que representa una desviación de la condición de panmixia (Ma et al. 2015). La distancia geográfica, ciertos atributos del paisaje (e.g. barreras), entre otros factores, pueden producir patrones específicos de subdivisión de una población y por consiguiente una estructura genética (Waits y Storfer 2016). Tasas altas de flujo génico tienen a homogenizar la diversidad genética entre las de las subpoblaciones, lo que puede conducir a una disminución de la diferenciación genética (Holderegger et al. 2006).

La aproximación más simple y popular para evaluar los patrones geográficos de la variación genética, es a través del índice de fijación (F_{ST}) y otros estadísticos relacionados como R_{ST} (microsatélites), Φ_{ST} (haplotipos) y Q_{ST} (rasgos cuantitativos) (Diniz-Filho et al. 2008). El F_{ST} es uno de los tres parámetros interrelacionados (F_{IT} , F_{IS} y F_{ST}) propuestos por Wright (1951), que describen la estructura genética en poblaciones diploides (Holsinger y Weir 2009). Sin embargo, existe una aproximación para datos haploides

² La Teoría de Evolución Neutral (Kimura 1968) postula que la mayor parte de las mutaciones son esencialmente neutras, es decir, tienen poco o nulo efecto sobre la adecuación (Hamilton 2009).

implementada por Excoffier et al. (1992) basada en el análisis de varianza de Weir y Cockerham (1984), en la cual se toma en cuenta el número de mutaciones entre los haplotipos y la frecuencia de los haplotipos para calcular los estadísticos Φ (Phi) que son análogos a los estadísticos F de Wright (Meirmans y Hedrick 2011). Esta aproximación se denomina análisis de la varianza molecular (AMOVA por sus siglas en inglés) y su propósito es evaluar la estructura de las poblaciones a través de la partición de la varianza en componentes jerárquicos, suponiendo que las poblaciones están espacialmente separadas (Excoffier et al. 1992; Diniz-Filho et al. 2008). El AMOVA calcula la proporción de la variación en tres niveles jerárquicos: dentro de poblaciones (Φ_{ST}), entre poblaciones dentro de grupos (Φ_{SC}) y entre grupos (Φ_{CT}) (Excoffier et al. 1992).

Otras aproximaciones para evaluar la estructura genética incluyen el papel de la distancia geográfica. Autores como Bolton et al. (2016) sugieren que aun cuando las poblaciones no muestren evidencia de diferenciación genética entre pares de poblaciones o global (AMOVA), éstas podrían presentar un patrón de aislamiento por distancia (IBD, *isolation-by-distance*). El paradigma de aislamiento por distancia supone que la diferenciación genética entre poblaciones se incrementa con la distancia geográfica, como consecuencia de limitaciones en la dispersión (Diniz-Filho et al. 2008).

ADN mitocondrial como marcador molecular

El ADN mitocondrial (ADNmt) es considerado uno de los marcadores moleculares más populares en cuanto a estudios de diversidad genética en animales (Galtier et al. 2009). Presenta características que simplifican considerablemente la representación y el análisis de la variación genética dentro de las especies (Parker et al. 1998; Galtier et al. 2009). El genoma mitocondrial es relativamente fácil de amplificar pues aparece en múltiples copias en una célula, es haploide, presenta un modo de transmisión uniparental, generalmente por vía materna³, con recombinación ausente o que puede suceder muy raras veces (Ciborowski et al. 2007).

³ En animales se asume que la herencia del genoma mitocondrial es estrictamente por vía materna y por consiguiente las células presenta la condición de homoplasmia (un solo tipo de mitocondria). Sin embargo, en varias especies animales se presentan el caso de fuga paterna de ADNmt a través del esperma, lo que

La molécula de ADNmt es circular, compacta, de doble cadena, con un tamaño que comprende de 16,000 a 21,000 nucleótidos en animales vertebrados. Contiene 13 genes que codifican proteínas involucradas en la fosforilación oxidativa, dos genes que codifican ARN ribosómico y 22 o 23 genes que codifican ARN de transferencia. El tamaño de la molécula, el arreglo de genes anterior y su organización son relativamente conservados para la mayoría de animales con simetría bilateral (Ludoukakis y Zouros 2017).

Además, la molécula de ADNmt consta de una región no codificante, la región control, cuyo largo y posición dentro de la molécula varían entre especies (Wilkinson y Chapman 1991). La región de control, el bucle de desplazamiento (D-loop) y la región hipervariable se usan como sinónimo en la literatura. Sin embargo, la región control incluye al D-loop, el cual se refiere a la fase temprana de la replicación en donde la primera hebra recién sintetizada desplaza a una de las hebras parentales, formando una burbuja o bucle (estructura de tres cadenas visibles al microscopio electrónico) (Freeland et al. 2011).

La región control participa en la replicación (síntesis de ARN y ADN) del genoma mitocondrial. En la mayoría de animales es considerada la región de más rápida evolución del genoma mitocondrial, y por lo tanto, es un marcador útil para el estudio de poblaciones o especies de divergencia reciente (Parker et al. 1998). La región control del ADNmt se ha convertido en una herramienta común para evaluar la diversidad genética dentro de poblaciones y para detectar firmas genéticas producto de disminuciones poblacionales recientes o contemporáneas, como cuellos de botella o efecto fundador (Jackson et al. 2013).

Entre las medidas de diversidad genética derivadas de la región control del ADNmt más utilizadas se encuentran: el número de haplotipos (h), la diversidad de haplotipos (H_d) y la diversidad de nucleótidos (π) (Jackson et al. 2013). Un haplotipo es la versión haploide de un genotipo y para los marcadores moleculares provenientes de ADN de organelos como mitocondrias y cloroplastos, se refiere a una única secuencia de ADN (Waits y Storfer 2016). La diversidad de haplotipos (H_d) se refiere a la probabilidad de

origina la condición de heteroplasmia (cuando un solo individuo presenta dos o más tipos de mitocondrias) y un aumento en las probabilidades de eventos de recombinación (Ciborowski et al. 2007).

que dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes (Nei 1987). Mientras que la diversidad nucleotídica (π) es equivalente a la diversidad génica (diversidad alélica dentro de un locus) pero a nivel de nucleótidos y se refiere a la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos elegidos al azar sean diferentes (Nei y Li 1979). Otras medidas de diversidad genética son los sitios segregados (S), los cuales se refieren a los sitios donde las secuencias difieren (Tajima 1989) y el número promedio de diferencias por nucleótido (k) también conocido como Θ_k (Tajima 1983). La región control también se ha convertido en un marcador común para examinar la estructura genética (Jackson et al. 2013).

Erosión genética como consecuencia de la transformación del paisaje

La pérdida de bosques afecta directamente la capacidad de carga de un área determinada, y por consiguiente, su capacidad de mantener poblaciones grandes. Evidencia empírica muestra que las densidades de poblaciones que habitan fragmentos de bosque de menor tamaño, son menores en relación a las densidades poblacionales de fragmentos de mayor tamaño (Baguette et al. 2013). Las poblaciones pequeñas son más vulnerables a la estocasticidad demográfica, estocasticidad ambiental y a factores genéticos (e.g. deriva génica) que tienden a reducir aún más el tamaño poblacional y en última instancia conducir a la extinción (Höglund 2009).

Las poblaciones pequeñas típicamente presentan niveles bajos de diversidad genética, en relación a poblaciones grandes (Frankham et al. 2002). Consideraciones teóricas sugieren que en poblaciones pequeñas el nivel de consanguinidad se incrementa, y del mismo modo, aumenta la importancia de la deriva génica (Höglund 2009). La consanguinidad reduce las tasas de supervivencia y reproducción (depresión por endogamia). A consecuencia de la consanguinidad, la proporción de homocigotos y la expresión de alelos deletéreos recesivos se incrementan. Las mutaciones deletéreas pueden fijarse mediante deriva génica, lo que gradualmente erosiona la adecuación en las poblaciones pequeñas (Frankham 2005).

Evidencia empírica sugiere que la transformación del paisaje puede erosionar tanto la diversidad genética neutral como adaptativa debido a la disminución del tamaño efectivo de las poblaciones y a la conectividad entre poblaciones (Johansson et al. 2007).

El paisaje puede influir en la cantidad y distribución de la variación genética de muchas formas, por ejemplo, en los patrones de movimiento de las especies y por consiguiente en el flujo génico (Waits y Storfer 2016).

Una de las consecuencias inmediatas de la fragmentación del paisaje, es la interrupción de los patrones de movimiento de las especies (*e.g.* migración, dispersión) y el aislamiento de individuos y poblaciones locales (McGarigal 2015). Sin embargo, en paisajes fragmentados, los movimientos de las especies pueden ocurrir dentro y entre fragmentos, esto último sólo si la matriz y otros elementos del paisaje facilitan los movimientos. El mantener la habilidad de las especies para moverse entre fragmentos (*i.e.* conectividad) podría disminuir los impactos negativos de la transformación del paisaje sobre la diversidad biológica y el funcionamiento de los ecosistemas (Baguette et al. 2013).

Si por el contrario, los movimientos de las especies entre fragmentos son impedidos (*e.g.* barreras físicas o matrices hostiles), los individuos y las poblaciones locales se aíslan funcionalmente. El grado de aislamiento depende de cómo las especies perciben e interactúan con los patrones del paisaje. Por ejemplo, especies con vagilidad menor, requerimientos específicos de hábitat y con dificultad para movilizarse entre fragmentos, serán más sensibles al aislamiento y por consiguiente a la fragmentación (McGarigal 2015).

El explorar cómo la transformación del paisaje, a través de la pérdida y fragmentación de bosques, afectan los movimientos de las especies se ha convertido en un tema recurrente en estudios de genética del paisaje, enfocándose en la conectividad y en la presencia de barreras físicas. Anterior a la genética del paisaje, con la genética de poblaciones se trataban de responder preguntas sobre la distribución de la variación genética en el espacio geográfico con enfoques como la evaluación de la relación entre distancia genética y geográfica (IBD) (Diniz-Filho et al. 2008). Muchos de estos estudios han incorporado el papel de la distancia geográfica y el grado de aislamiento para explicar la variación genética de las poblaciones, sin embargo, existe un creciente interés en evaluar cómo la composición y configuración de los paisajes influyen en la diversidad genética dentro de las poblaciones (Zuckerberg et al. 2013; Jackson y Fahrig 2016).

Murciélagos como modelo de estudio

En el caso de los murciélagos, se asume que por su capacidad de vuelo, no se ven afectados negativamente por la fragmentación a escala de paisaje (McCulloch et al. 2013). El vuelo les permite cubrir distancias largas en periodos cortos, atravesando por diferentes coberturas y usos del suelo, que para otras especies de mamíferos podrían resultar como barreras físicas (Norberg y Rayner 1987). De igual forma, debido a esta capacidad de movilidad, se esperan poblaciones con estructura genética baja y que las especies sean panmíticas a lo largo de su distribución (Burland y Worthington-Wilmer 2001). No obstante, factores como el comportamiento migratorio y reproductivo, así como aspectos demográficos pueden influir en cómo las poblaciones están genéticamente definidas (Ortega et al. 2003). De igual forma, otros rasgos ecológicos como requerimientos de hábitat (e.g. selección de refugios y la búsqueda de alimento) influyen la distribución de la variación genética en el espacio geográfico (Vázquez-Domínguez et al. 2013).

Los murciélagos representan una historia de éxito evolutivo y ecológico, sin embargo, algunas poblaciones en muchas partes del mundo se encuentran amenazadas principalmente por la transformación del paisaje: pérdida y fragmentación de bosques (Voigt y Kingston 2016). Los murciélagos son particularmente susceptibles a estas perturbaciones debido a ciertos atributos de su historia de vida: tasa de reproducción baja y longevidad, en comparación con otras especies de mamíferos de talla corporal similar (Reid 2009); lo que ocasiona que sus poblaciones se recuperen lentamente, frente a tasas de mortalidad que incrementan cada vez más (Voigt y Kingston 2016).

Los murciélagos desempeñan papeles ecológicos en los sistemas naturales y en las áreas agrícolas, por lo que son de relevancia tanto ecológica como económica (Maine y Boyles 2015; Preciado-Benítez et al. 2015). El estudio de especies de murciélagos en paisajes transformados como consecuencia de actividades humanas, resulta particularmente importante debido a las funciones cruciales que desempeñan en los ecosistemas. Por ejemplo, algunos géneros de la familia Phyllostomidae como *Carollia*, *Sturnira* y *Artibeus* juegan un papel importante en la sucesión natural de los bosques tropicales, pues al alimentarse de frutos de plantas pioneras durante las primeras etapas

de la sucesión vegetal, participan en la dispersión de sus semillas y en la regeneración natural de los bosques (Evelyn y Stiles 2003).

En el área de estudio, la cual incluye al Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) y alrededores, se reportan 21 especies de murciélagos (Grajeda-Godínez 2004), de las cuales *Artibeus jamaicensis* junto con otras especies frugívoras son de las más abundantes (Grajeda-Godínez 2004; Martínez-Sánchez 2005). El área de estudio constituye un ejemplo de la transformación de bosques nubosos a bosques secundarios (Ramírez-Marcial et al. 2010). Entre las comunidades vegetales identificadas en el área se incluyen: bosques de coníferas, remanentes de bosque mesófilo de montaña (distribuidos únicamente al interior del parque), bosques de latifoliadas y selvas medianas (Carlson 1954).

El PNLM fundado en 1953, abarca un área total de 6,425 hectáreas (ha) con una zona de influencia de 8,530 ha (SEMARNAT y CONANP 2011). En 1998 se produjo el cambio más importante en cuanto a uso del suelo dentro del parque. Registros hasta el año 2000, señalan que los bosques se redujeron en 51.62 %, las selvas en 22.65 % y la actividad agrícola se incrementó en 23.94 % (Lara-Visconti 2000). La colonización humana desorganizada ha originado fuertes presiones e impactos en las zonas aún forestadas dentro y fuera del parque. El único asentamiento humano ubicado dentro los límites del PNLM, es considerado clave para entender la dinámica del parque, ya que dio origen a varias colonias que se ubicaron en la zona de influencia (Tavira-Noriega 1988). Estas comunidades hacen uso de porciones de tierra, cada vez más extensas, para el cultivo de café, frijol, tomate y maíz (SEMARNAT y CONANP 2011).

Artibeus jamaicensis es considerada una de las especies más tolerantes a la alteración humana debido a que puede forrajear en áreas con algún grado de perturbación, como terrenos agrícolas, vegetación secundaria, bosques talados de forma selectiva, entre otras. No obstante, dependen en gran medida de fragmentos de bosque maduro para el establecimiento de sus refugios. Para los murciélagos en general, el uso de los refugios es de suma importancia para el éxito reproductivo y la supervivencia (Evelyn y Stiles 2003).

Trabajos previos en el área de estudio reconocen la necesidad de un enfoque de paisaje para poder entender los efectos de la pérdida y fragmentación de los bosques

sobre el grupo de murciélagos (Grajeda-Godínez 2004). Cambios en la estructura del paisaje (composición y configuración), puede llegar a modificar la distribución espacial de los recursos y repercutir en el uso de hábitat por parte de *A. jamaicensis*. Por ejemplo, al aumentar la distancia entre fragmentos de bosque, aumenta la distancia recorrida entre los sitios de refugio diurno y las áreas de alimentación nocturna (lo cual representa una gran parte del consumo energético para esta especie), o en última instancia, el tipo de matriz que predomina en el área, con grandes extensiones de áreas abiertas impida el movimiento de esta especie entre los fragmentos de bosque.

En específico, en el presente estudio se exploraron patrones de diversidad y estructura genética a través de la región control del ADNmt para *A. jamaicensis*, con relación a la estructura del paisaje: composición y configuración. Con este trabajo, a nivel genético, se complementa el nivel de poblaciones y especies abordado previamente, sobre las respuestas a la pérdida y fragmentación de los bosques a escala de paisaje para el grupo de murciélagos en el área de estudio (Kraker-Castañeda et al. 2017)

ANTECEDENTES

Estudios sobre los efectos de la transformación del paisaje sobre murciélagos

Los estudios que han evaluado la relación entre los murciélagos y perturbaciones antropogénicas, incluidas la pérdida y fragmentación de bosques, están sesgados hacia los trópicos y hacia los murciélagos filostómidos. México es uno de los países con mayor número de estudios que evalúan esta relación (Meyer et al. 2016).

A partir de estudios que evaluaron la relación entre la abundancia de murciélagos y ciertas características a nivel local (*e.g.* densidad de árboles, cobertura del dosel, entre otras) se han revelado los siguientes patrones generales: disminución en la abundancia de especies carnívoras y algunas especies insectívoras; aumento en la abundancia de especies frugívoras y nectarívoras (*e.g.* García-García y Santos-Moreno 2014).

A escala de paisaje, características particulares de los paisajes como la historia de fragmentación, la composición de la matriz y las escalas de análisis hacen que sea difícil la detección de patrones generales (Meyer et al. 2016). La respuesta (*e.g.* riqueza de especies) a la pérdida y fragmentación de bosques ha sido evaluada en su mayoría, sobre ensamblajes (grupos relacionados filogenéticamente dentro de una comunidad) y sobre gremios tróficos. Por ejemplo, el trabajo de Arroyo-Rodríguez et al. (2016) proporciona evidencia de la composición del paisaje (medida a través del porcentaje de la cobertura de bosque) como predictor principal de la riqueza del ensamblaje de murciélagos filostómidos presente en un paisaje fragmentado de la Selva Lacandona en Chiapas. Contrario a estos resultados, García-García y Santos-Moreno (2014) encontraron que la riqueza y abundancia del ensamblaje de murciélagos de filostómidos en un paisaje fragmentado en la selva Los Chimalapas en Oaxaca, se relaciona con características de la configuración del paisaje (*e.g.* densidad de borde y proximidad entre los fragmentos de bosque).

Recientemente, ha crecido el interés en evaluar la influencia de atributos del paisaje sobre la variabilidad genética y estructura genética, con el principal objetivo de poder identificar qué elementos del paisaje están facilitando o impidiendo el flujo génico. Para el caso de los murciélagos, estos estudios han incorporado el papel de la distancia geográfica y la presencia de barreras físicas. Sin embargo, a la fecha existen muy pocos

estudios que tomen en consideración otros atributos del paisaje, como la composición y configuración de una determinada clase de cobertura o uso del suelo. Los pocos estudios que han incorporado información genética para conocer las respuestas de los murciélagos a la transformación del paisaje, aportan evidencia de diferenciación entre poblaciones por parte de algunas especies, a una escala espacial pequeña (e.g. Ripperger et al. 2013; Meyer et al. 2009).

***Artibeus jamaicensis*: generalidades**

Artibeus jamaicensis Leach, 1821 es una de las especies de murciélagos más comunes en el Neotrópico. Es una especie de distribución amplia, que abarca desde los estados de Sinaloa y Tamaulipas en México, hacia el sur hasta Ecuador, Venezuela, la Amazonía Brasileña y el norte de Argentina; presente en Trinidad, Tobago, Antillas Mayores y Menores (Reid 2009; Ortega y Castro-Arellano 2001). Es considerada una especie abundante y proporcionalmente dominante en algunas comunidades (Ortega y Castro-Arellano 2001).

Se encuentra en hábitats tropicales húmedos, como la selva tropical perennifolia e incluso penetra bosques nubosos, hábitats más secos (bosque seco estacional) y hábitats modificados por el hombre (Ortega y Castro-Arellano 2001). Como refugio o sitio de percha utiliza cuevas, troncos huecos, follaje denso, edificaciones humanas (Morrison 1978a), además de modificar hojas de varias especies de plantas para formar refugios temporales en forma de “tiendas” (Rodríguez-Herrera et al. 2007).

Se trata de una especie mayormente frugívora, considerada generalista pero especialista en higueras (Ortega y Castro-Arellano 2001). Los mayores componentes de su dieta son los frutos de los géneros *Ficus* spp., y otros árboles característicos de etapas tardías de la sucesión vegetal, como *Spondias* spp. Ocasionalmente se alimenta de frutos de árboles y arbustos característicos de etapas tempranas de la sucesión vegetal, como *Cecropia* spp., *Solanum* spp. y *Piper* spp. (Ortega y Castro-Arellano 2001). También se alimenta de frutos de árboles frutales cultivados (e.g. Flores-Martínez et al. 2000). En la época seca, dependiendo de la disponibilidad de alimento, puede incluir en su dieta algunas flores, polen, néctar, hojas e insectos (Kunz y Díaz 1995). Su ciclo reproductivo está estrechamente relacionado con la fenología de los árboles frutales de los cuales se

alimenta (Ortega y Arita 1999). En México y Centroamérica, la especie presenta un patrón poliédrico estacional bimodal: hembras reproductivamente activas a lo largo del año, con picos de reproducción siguiendo un patrón bimodal, relacionado con la época seca y de lluvias. Las hembras dan a luz a una cría, y en muy raras ocasiones a gemelos. Esta especie de murciélago puede llegar a vivir nueve años en condiciones de vida libre, o hasta diez años en cautiverio (Ortega y Castro-Arellano 2001).

La preferencia por frutos de etapas tardías de la sucesión (que generalmente presentan una distribución discontinua), se relaciona con su tamaño corporal y ámbito hogareño (Morrison 1978b). *Artibeus jamaicensis* es considerada una especie de talla corporal grande, de 29-51 gramos (g) (Reid 2009). Los patrones de movimientos diarios para esta especie han sido evaluados con técnicas de radio-telemetría y marcaje-recaptura por varios autores. Morrison (1978b) reporta una distancia de trayecto en un bosque continuo, de 8 km en promedio. Sin embargo, en paisajes fragmentados las distancias de trayecto son menores. Por ejemplo, Bernard y Fenton (2003) en un paisaje fragmentado de forma natural, reportan movimientos entre fragmentos de bosque de 2.7 km en promedio. Bianconi et al. (2006) reportan movimientos de 1.2 km entre remanentes de bosque rodeados de áreas agrícolas (maíz y soya).

Su sistema de organización social se basa en la poliginia, el sistema de apareamiento más frecuentemente reportado en mamíferos, el cual se caracteriza por el monopolio por parte de los machos de varias hembras durante la época de apareamiento (Ortega y Arita 1999). La estructura social incluye harenes, conformados en los sitios de refugio, de entre 4 a 18 hembras, sus crías, uno o dos machos dominantes que defienden activamente el harén de otros machos (Ortega y Arita 2000). La poliginia con defensa de hembras por parte de machos se ha reportado sobre todo en cuevas (Ortega y Arita 2000), aunque también la defensa por parte de los machos puede estar dirigida hacia los recursos, como troncos huecos (Morrison 1979). Las hembras muestran fidelidad alta a los refugios (Morrison 1978a).

De acuerdo a la lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN, esta especie se ubica dentro la categoría de Preocupación Menor, con base a su distribución amplia, presuntas poblaciones grandes, y porque es poco probable que sus poblaciones

disminuyan a la tasa requerida para ubicar a la especie dentro de una categoría de amenaza (Miller et al. 2008).

***Artibeus jamaicensis*: diversidad y estructura genética**

Artibeus jamaicensis ha sido estudiado ampliamente a nivel molecular, por ejemplo, fue la primera especie de murciélago de la cual se obtuvo el genoma mitocondrial completo (Pumo et al. 1998). Sin embargo, según Vázquez-Domínguez et al. (2013) sólo tres estudios evalúan los patrones de diversidad genética y estructura para esta especie: dos estudios buscan responder preguntas ecológicas y evolutivas a través de ADN nuclear (microsatélites) a un nivel local (Ortega et al. 2003; Ortega y Maldonado 2006) y un tercero evalúa los efectos de huracanes sobre la diversidad genética a través de microsatélites y de la región control del ADNmt en un contexto de islas oceánicas (Fleming y Murray 2009).

En este mismo contexto, el trabajo de Carstens et al. (2004) explora la estructura genética de un grupo de poblaciones de *A. jamaicensis* en las Antillas Menores, en particular, el grado en que las poblaciones de las islas están genéticamente diferenciadas. Los autores encontraron, a partir de secuencias de citocromo b (ADNmt) que las poblaciones de las islas a pesar de estar geográficamente aisladas, no lo están genéticamente (Carstens et al. 2004). De igual forma, Pumo et al. (1988) a través del uso de sitios de restricción en ADNmt encontró evidencia de intercambio genético de subespecies de *A. jamaicensis* entre islas (Antillas Mayores y Menores). Autores como Burns y Broders (2014) consideran que en este contexto se podrían presentar factores de confusión sobre la estructura genética de *A. jamaicensis* debido a patrones históricos de conexión con poblaciones continentales.

Vázquez-Domínguez et al. (2013) evaluaron los efectos de rasgos ecológicos (dispersión y hábito generalista) sobre la diversidad y estructura genética de *A. jamaicensis* en la Isla Cozumel en el Caribe mexicano. Entre los resultados obtenidos a partir de microsatélites, se destaca la diversidad genética relativamente alta y la ausencia de estructura genética (Vázquez-Domínguez et al. 2013). Asimismo, Llaven-Macías et al. (2017) evalúan la diversidad y estructura genética, además de la historia demográfica de *A. jamaicensis* en dos localidades de la Llanura Costera del Pacífico en Chiapas. Sin

embargo, estos autores encontraron ligera diferenciación genética entre las dos poblaciones evaluadas (Llaven-Macías et al. 2017).

HIPÓTESIS

Dado que la pérdida y fragmentación de los bosques, resultan en una reducción en el área y distintos arreglos espaciales de los fragmentos de los mismos, y a su vez propician aislamiento para algunos animales dependiendo de su vagilidad, se espera que en paisajes con mayor cantidad de bosque y menos fragmentados se presente mayor diversidad genética en las poblaciones de *Artibeus jamaicensis* en el área de estudio.

A pesar de la capacidad de movilidad alta y hábitos generalistas de *A. jamaicensis*, la magnitud de la respuesta de una especie está determinada por el contexto paisajístico y en este caso, en el área de estudio la conversión del bosque se da hacia usos del suelo con tendencia a área abierta, por lo que se espera encontrar estructura genética y evidencia de interrupción del flujo génico para esta especie.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar atributos de la estructura del paisaje (composición y configuración) que podrían tener influencia en la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis* en el área de estudio.

Objetivos específicos

- Estimar la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis* en cada sitio de muestreo dentro del área de estudio.
- Determinar la existencia de diferenciación genética entre las poblaciones de *Artibeus jamaicensis* en el área de estudio.
- Conocer la relación entre atributos del paisaje sobre la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y sitios de muestreo

El área de estudio se ubica en el municipio de La Trinitaria, situado al sur de la meseta Comiteca, en la zona de transición entre la Depresión Central y las selvas tropicales de tierras bajas (Planicie Costera del Golfo) del estado de Chiapas; colindando al este con la República de Guatemala (Fig. 1). Se localiza dentro de los paralelos 16°10' - 16°02' latitud Norte y 91°52' - 91°40' longitud oeste, a altitudes que van desde los 1,300 a los 1,800 metros (m) (CEM 3.0-INEGI 2013) e incluye al Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) y sus alrededores. El área de estudio se caracteriza por la presencia de lagos de origen kárstico y cenotes de diferentes extensiones y formas, que constituyen un sistema de humedales, fragmentos de bosque conservado y bosque perturbado y por extensos terrenos agrícolas, en dónde la historia de uso agrícola se remonta a décadas atrás (SEMARNAT y CONANP 2011).

Se establecieron tres sitios de muestreo, ubicados en los alrededores del PNLM: Chinkultic (Ch), Tzicumaltic (Tz) y Nueva Rosita (Ro). Se incluyeron muestras de tejido de la membrana alar de *Artibeus jamaicensis* de un estudio previo (Kraker-Castañeda et al. 2017) provenientes de otros tres sitios, ubicados en los alrededores del PNLM: Campomá (Ca), Achachsnajab (Ac) y Licanusej (Li), depositadas en la Colección Mastozoológica de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas: ECO-SC-M 8325, 8329, 8331-32, 8341, 8343, 8345, 8349-50, 8356, 8393-95, 8397, 8414, 8418, 8425, 8427-28, 8432-34 (Anexo 1). Cada sitio representa un fragmento de bosque rodeado de terrenos agrícolas, en su mayoría de cultivo de maíz (Fig. 1).

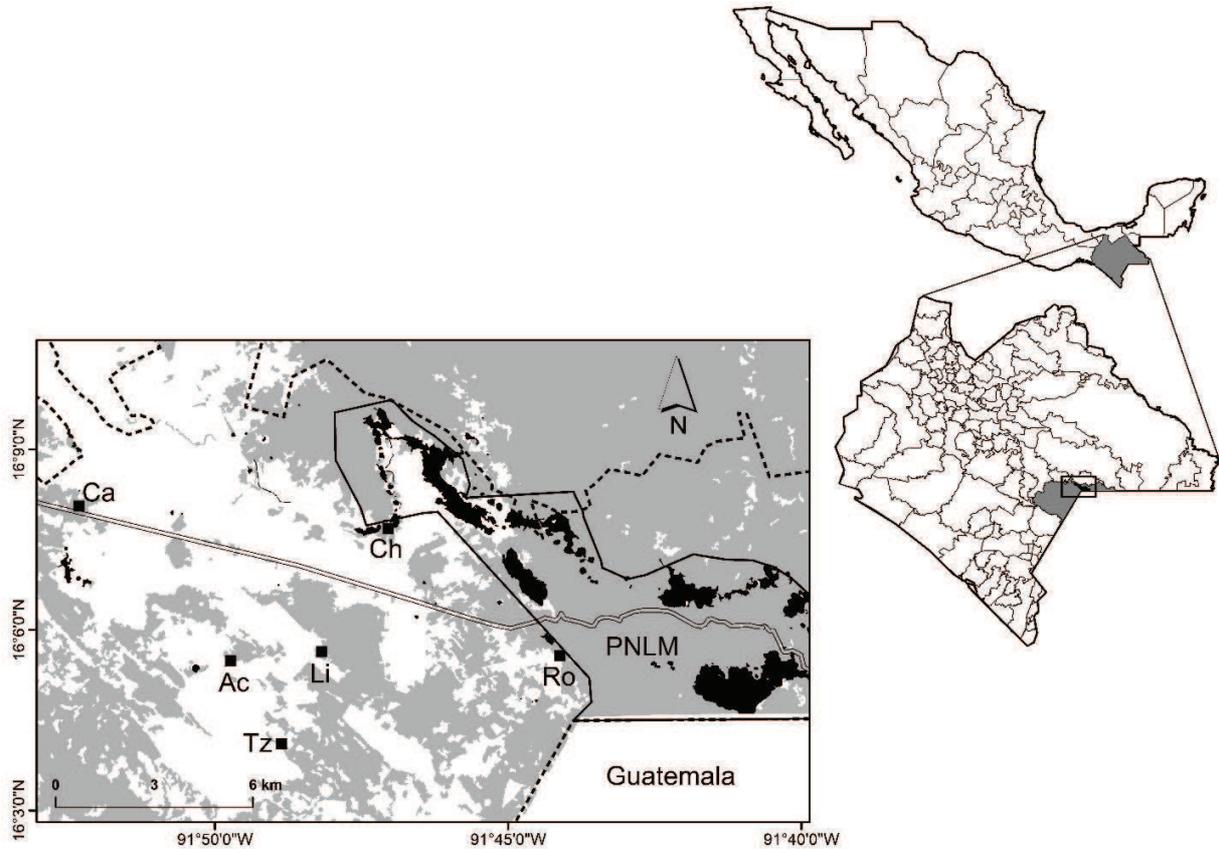


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio y los sitios de muestreo de *Artibeus jamaicensis* en el municipio de La Trinitaria, Chiapas. En gris se indican los fragmentos de bosque y el bosque continuo; en negro los cuerpos de agua; los ■ denotan los sitios de muestreo: Campomá (Ca), Achachsnajab (Ac), Licanusej (Li), Chinkultic (Ch), Tzicumaltic (Tz), Nueva Rosita (Ro); las líneas punteadas denotan los límites municipales y de país; las líneas continuas el polígono del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) y las líneas dobles la carretera que atraviesa el área de estudio.

Trabajo de campo

Los muestreos fueron llevados a cabo en el interior de fragmentos de bosque, en donde a lo largo de áreas de alimentación o rutas de vuelo de murciélagos se colocaron tres redes de niebla de 12 m de largo y 5 m de alto (Ecotone®, Polonia), las cuales permanecieron abiertas durante 4 horas (iniciando al anochecer) (Kraker-Castañeda et al. 2017). Cada sitio fue muestreado tres noches consecutivas, de preferencia noches

próximas a luna nueva para evitar el efecto de fobia lunar (Morrison 1978c). Los muestreos en los sitios Ch, Tz y Ro fueron desarrollados durante los meses de abril, julio y octubre de 2016; mayo, julio y septiembre de 2017. El sitio Ca fue muestreado nuevamente durante el periodo 2016-2017.

Para cada espécimen capturado se registró información de peso (balanza de resorte de 100 gramos, PESOLA®), sexo, estado reproductivo (e.g. hembras en estado de gravidez), edad (identificada mediante el grado de osificación de la epífisis metacarpal; Anthony 1988) y longitud del antebrazo derecho (calibrador digital de seis pulgadas, ADT TOOLS). Esta última característica es de mucha importancia para poder diferenciar entre individuos de *A. jamaicensis* y *A. lituratus*, pues los caracteres diagnósticos de coloración del dorso y presencia o ausencia de líneas faciales no fueron fáciles de diferenciar para algunos especímenes capturados, en especial para juveniles. Para *A. jamaicensis* la longitud del antebrazo es de 55 a 67 milímetros (mm) y para *A. lituratus* de 69 a 78 mm (Álvarez-Castañeda et al. 2015). Únicamente se consideraron individuos adultos y subadultos que estuvieran dentro del promedio de la longitud del antebrazo para la obtención de muestras de tejido. Las hembras preñadas también fueron excluidas, debido al estrés producido por la manipulación para la obtención de tejido. Existe evidencia de casos de interrupción del embarazo como consecuencia del estrés en algunas especies de murciélagos (Heideman 2000).

Se practicó una biopsia de aproximadamente 4 mm de diámetro en la membrana alar mediante un *punch* dermatológico (Worthington-Wilmer y Barratt 1996). La biopsia se realizó en una posición estándar: entre el cuarto y quinto dedo del ala derecha (Ripperger et al. 2013). Las muestras de tejido se preservaron en viales con alcohol de caña al 96 %. Todos los individuos capturados fueron liberados inmediatamente después del registro de datos y de la toma de tejido. La captura, manipulación de los ejemplares y la obtención de las muestras de tejido se hicieron de acuerdo a los lineamientos de la Sociedad Americana de Mastozoología (Sikes et al. 2016) y del Museo Americano de Historia Natural (*American Museum of Natural History* 2018). Los anteriores protocolos fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética para la Investigación de ECOSUR. Se contó con el permiso de colecta científica no. FAUT-0143, expedido por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

Caracterización del paisaje

Procesamiento de imágenes satelitales

La caracterización del paisaje a través del cálculo de métricas que describen patrones espaciales, tiene como base una imagen clasificada de acuerdo a clases de cobertura y uso del suelo identificados en el área de estudio. Para el proceso de clasificación se empleó una escena obtenida por el sensor satelital SPOT 5 del año 2015, con una resolución espacial (o tamaño de pixel) de 20 m, ortorectificada y con una calibración radiométrica previa al proceso de clasificación (Aguilar-Arias et al. 2014). La imagen SPOT fue facilitada por el Laboratorio de Análisis de Información Geográfica y Estadística (LAIGE) de ECOSUR.

La escena SPOT original fue recortada para incluir únicamente el área de estudio, que consta de aproximadamente 20,000 ha. La clasificación de la imagen recortada se llevó cabo en el programa IDRISI 17.0-The Selva Edition (Clark-Labs, Clark University, 1987-2012). Se emplearon las bandas 1 (verde), 2 (rojo) y 3 (infrarrojo cercano) para crear una composición a falso color: 3, 2 y 1, con un contraste lineal simple. Las longitudes de onda del verde (0.50-0.59 μm), rojo (0.61-0.68 μm) e infrarrojo cercano (0.78-0.89 μm) permiten medir interacciones en la Tierra sin interferencias significativas con la atmósfera, de modo que es posible establecer con mayor certeza las clases de vegetación (Eastman 2012).

Se identificaron cinco clases de cobertura y uso del suelo con base en lo observado en el área de estudio: (1) bosques conservados; (2) bosques perturbados, que incluye a la vegetación secundaria como resultado de descansos de agricultura migratoria (*e.g.* acahuals), vegetación modificada por prácticas como la tala selectiva, pastoreo, cultivos bajo sombra (*e.g.* cafetales); (3) cuerpos de agua, incluidos naturales (lagos, cenotes, ríos y áreas inundables) y artificiales; (4) terrenos agropecuarios, agrupa a las áreas agrícolas sin cobertura boscosa (cultivos de maíz) y a las áreas destinadas a actividades pecuarias (*e.g.* pastizales inducidos) y (5) estructuras antrópicas, incluye núcleos de población humana, infraestructura urbana, suelo desnudo y otras construcciones (*e.g.* invernaderos para el cultivo de tomate y hortalizas).

Se empleó el método de clasificación supervisado (Chuvieco 1990), con un enfoque de clasificación basado en la identificación de objetos (Blaschke et al. 2014). La estrategia en la clasificación supervisada es el muestreo de áreas de clases de cobertura o uso del suelo conocidos para determinar valores espectrales representativos⁴. A estas áreas muestreadas generalmente se les conoce como muestras o áreas de entrenamiento (Verbyla 1995). Para la asignación de las áreas de entrenamiento se consideraron 100 puntos de control tomados en campo (GPS GARMIN® etrex) y otros puntos identificados a través de imágenes recientes de Google Earth (Google Inc. 2018). Para la identificación de objetos (píxeles adyacentes agrupados de acuerdo a su similitud espectral) se empleó un umbral de similitud de 30 para obtener segmentos homogéneos y de un tamaño que facilitara la selección de las áreas de entrenamiento (Eastman 2012).

Se utilizó el clasificador de Máxima Verosimilitud, uno de los clasificadores duros más utilizados en procedimientos de clasificación de imágenes satelitales (Lu y Weng 2007; Eastman 2012). Finalmente, se re-clasificó la imagen con el objetivo de mejorar la precisión de la clasificación y producir bordes suavizados entre cada clase, a través de un clasificador distintivo de la rutina de segmentación en IDRISI (Eastman 2012). La precisión de la clasificación se evaluó a través de una tabla de contingencia (también denominada matriz de confusión), construida a partir de los 100 puntos de control muestreados en campo (Verbyla 1995).

Cálculo de métricas de composición y configuración de los paisajes

Tomando como base la imagen clasificada se calcularon métricas para dos ventanas espaciales en cada sitio de muestreo. Alrededor de cada punto de muestreo se establecieron círculos concéntricos con radios de 1,000 y 1,500 m (en adelante denominados como buffers 1 y 2, respectivamente; Fig. 2). El tamaño de los buffers se basó en las respuestas que han mostrado *A. jamaicensis* y otras especies de filostómidos

⁴ Las imágenes se obtienen en formato *raster* en donde el valor de cada píxel (nivel digital), se relaciona con valores de reflectancia espectral propios de la superficie cubierta por dicho píxel y del rango del espectro electromagnético en el cual el sensor capturó la información (Verbyla 1995).

a estas escalas espaciales (Pinto y Keitt 2008; Ávila-Cabadilla et al. 2012; Bolívar-Cimé et al. 2013).

El cálculo de las métricas se llevó a cabo en el programa Fragstats versión 4.2.1.603 (McGarigal y Ene 2013). Se calcularon métricas a nivel de clase, las cuales describen características de la estructura (composición y configuración) de la clase de cobertura o uso de suelo de interés (McGarigal y Marks 1995), que en este caso corresponde a las clases de bosque. La estructura del paisaje debe ser cuantificada con el menor número de métricas independientes (no correlacionadas) (Cushman et al. 2008; Machado et al. 2018). Las métricas seleccionadas resultan relevantes para la pregunta de investigación (Turner 2001), pues describen patrones espaciales (e.g. grado de aislamiento) como consecuencia de la pérdida y fragmentación de los bosques. La pérdida del bosque puede ser vista como cambios en la composición de los paisajes, mientras que la fragmentación como cambios en la configuración (Hadley y Betts 2016).

Para evaluar la composición, se estimó el porcentaje de las clases bosque conservado (Bc) y bosque perturbado (Bp) en los paisajes, además se consideró la unión de estas dos clases (Btotal). Estas mediciones revelan cuánto de los paisajes están ocupados por cada una de las tres clases de bosque (McGarigal y Marks 1995). Como métricas de configuración se emplearon: la media de la distancia Euclidiana al vecino más cercano (ENN), borde total (TE) e índice de división (SPLIT) para el bosque total. La métrica ENN ha sido utilizada frecuentemente para cuantificar el grado de aislamiento de los fragmentos (McGarigal 2015) y representa una aproximación de la conectividad estructural (Tischendorf y Fahrig 2000). La métrica de borde empleada (TE) refleja la cantidad de borde presente en los paisajes, en donde valores altos son interpretados como paisajes más fragmentados (McGarigal y Marks 1995; McGarigal 2015). La métrica SPLIT es una de las tres métricas propuestas por Jaeger (2000) que caracterizan la fragmentación del paisaje desde una perspectiva geométrica (Machado et al. 2018). El valor de SPLIT incrementa cuando la clase de interés se reduce en área y se subdivide en fragmentos de menor tamaño (McGarigal 2015).

Trabajo de laboratorio

Extracción, amplificación y secuenciación

El ADN fue extraído y purificado por medio de protocolos de los paquetes comerciales *DNeasy® Blood & Tissue* (QIAGEN, Alemania) y *Wizard® Animal Tissue* (Promega, EUA). Los resultados de las extracciones se verificaron por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1 % (Fierro-Fierro et al. 2014). Tras la electroforesis, los geles fueron teñidos con una solución de bromuro de etidio (BrEt), visualizados mediante un transiluminador de luz UV (UVP®, TM20), fotografiados con el sistema de fotodocumentación y análisis Kodak EDAS 290 y Kodak 1D software versión 3.5.4. (Kodak, EUA).

Una vez aislado el ADN, se amplificó por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) un segmento de la región control del ADNmt, que inicialmente constaba de aproximadamente 410 pares de bases (pb). Como cebadores se utilizaron los oligonucleótidos JAMA1 (5' GCC TAT GTA ATT CGT GCA TAT 3') y JAMA2 (5' CTT ATT TAA GGG GAA CGA GTG 3') (Ruiz et al. 2013). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador de punto final (BIO RAD T100™), con una mezcla de reacción de volumen final de 38-41 microlitros (µl): 2 µl de cada cebador con una concentración 2 milimolar (mM), 18 µl *Taq* PCR Master Mix (Promega, EUA), 15 µl de agua libre de nucleasas (Promega, EUA) y una cantidad variable de ADN con concentración de al menos 40 nanogramos/µl, cuantificados por medio del espectrofotómetro NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific). El programa de amplificación implementado fue el siguiente: un primer paso de pre-calentamiento a 95°C durante 10 minutos; 30 ciclos que comprenden tres pasos: desnaturalización a 95°C por 1 minuto, alineamiento a 61°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto; y una extensión final de 72 °C durante 10 min. El éxito de la amplificación se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5 %, con colorante de carga *Blue/Orange* 6X (Promega, EUA), *Ladder* (100 pb, Promega, EUA) y controles positivos y negativos de la reacción (Fierro-Fierro et al. 2014). La tinción, visualización y documentación de los geles se hizo de la misma forma anteriormente especificada.

Los productos de las amplificaciones exitosas fueron enviados para purificación y secuenciación a la empresa MacroGen Inc. (www.macrogen.com) con sede en Seúl,

Corea del Sur. El método empleado fue el de Electroforesis Capilar (Sanger), con el protocolo de secuenciación *BigDye® Terminator Cycle Sequencing* (Applied Biosystems) y el secuenciador ABI PRISM® 3730xl Analyzer de 96 capilares (Applied Biosystems). La identidad de las secuencias obtenidas fue corroborada por medio de la herramienta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), específicamente en el programa BLASTN 2.7.1 (Zhang et al. 2000). Las secuencias (electroferogramas) fueron revisadas visualmente y editadas en el programa Chromas 2.5.1 (Technelysium Pty Ltd. 1998-2016). Posteriormente se llevó a cabo la alineación de las secuencias en el programa Clustal X versión 2.1. (Larkin et al. 2007). Una vez alineadas las secuencias, se construyeron los archivos de entrada para los programas utilizados para estimar los parámetros de diversidad genética y los análisis de diferenciación.

Análisis de diversidad genética

Como estimadores de la diversidad genética se utilizaron los parámetros: número de haplotipos (h), diversidad de haplotipos (Hd), número de sitios segregados (S), diversidad nucleotídica (π) y número promedio de diferencias de nucleótidos por par de secuencias (k). Los cálculos de estos estadísticos se llevaron a cabo en el programa DnaSP versión 5.10 (Librado y Rozas 2009) para cada uno de los sitios de muestreo y para el conjunto en total.

Se construyó una red de haplotipos en el programa Network versión 4.6.1.6 (Fluxus Technology Ltd. 2004-2018) para representar las relaciones entre los haplotipos únicos identificados para el conjunto total de datos. Para este fin se empleó el algoritmo *Median-Joining* (MJ) (Bandelt et al. 1999) con los parámetros por defecto (valor de $\epsilon = 0$, peso de transversiones/transiciones de 1:1, costo de conexión), excepto para el peso de sitios variables (considerados como aquellos con más de diez cambios), disminuido de diez (por defecto) a cinco (Fluxus Technology Ltd. 2015).

Análisis de estructura genética

Para evaluar la estructura genética de *A. jamaicensis* en el área de estudio, se llevaron a cabo los siguientes análisis: (1) estimación del grado de diferenciación entre pares de

poblaciones, (2) análisis jerárquico de diferenciación mediante un AMOVA, (3) una prueba Mantel para evaluar el patrón de aislamiento por distancia y (4) un análisis espacial de la varianza molecular (SAMOVA) (Dupanloup et al. 2002). Los primeros tres análisis fueron llevados a cabo en el programa Arlequin versión 3.1 (Excoffier et al. 2005), mientras que el último se llevó a cabo en el programa SAMOVA versión 1.0 (Dupanloup et al. 2002).

Para la estimación de los valores de Φ_{ST} entre los seis sitios de muestreo se utilizó la diferencia pareada como método de distancia. La significancia de las estimaciones se evaluó por medio de 10,000 permutaciones aleatorias (Excoffier et al. 2006). Para el AMOVA se consideró una estructura *a priori*, en donde los haplotipos fueron agrupados de acuerdo al sitio de muestreo, es decir, cada sitio se consideró como una población. De igual forma, se empleó la diferencia pareada y 10,000 permutaciones de haplotipos entre poblaciones para evaluar la significancia de los estadísticos calculados.

La prueba de Mantel (Mantel 1967) evalúa la significancia de la correlación entre dos matrices: matriz de distancias genéticas, en este caso obtenida a partir de valores pareados de Φ_{ST} lineales y una matriz de distancias Euclidianas entre los sitios de muestreo, obtenida en el programa QGIS versión 2.8.4-Wien (QGIS *Development Team* 2009). Los estadísticos de la prueba de Mantel también se evalúan por medio de 10,000 permutaciones (Excoffier et al. 2006).

El SAMOVA toma en consideración la ubicación geográfica de los sitios de muestreo e implementa un algoritmo que permite dividir a las poblaciones en grupos, para los cuales la proporción de la varianza genética total debido a diferencias entre grupos es máxima, es decir, grupos para los cuales el componente Φ_{CT} es maximizado. Lo anterior se realiza con el principal objetivo de encontrar grupos geográficamente adyacentes, genéticamente homogéneos (diferencia genética mínima) y diferenciados al máximo uno del otro (Dupanloup et al. 2002). Para ello se utilizaron los parámetros por defecto ($S = 10,000$; $A = 0.9158$ y 100 como número de pasos iniciales) y todas las agrupaciones posibles, en donde el número de grupos (K) se asignó de 2 a 5 grupos. Las estructuras derivadas de los anteriores agrupamientos ($K = 2, 3, 4$ y 5) se evaluó en el programa Arlequin a través de un AMOVA. Se seleccionó como K óptimo, aquel cuya

diferencia entre grupos (Φ_{CT}) fuera maximizada y estadísticamente significativa después de 10,000 permutaciones (Dupanloup et al. 2002).

Análisis de datos

Para evaluar la posible influencia de la estructura del paisaje (métricas de composición y configuración) sobre la diversidad genética se empleó un análisis de partición jerárquica (Chevan y Sutherland 1991) como método exploratorio y correlaciones de Spearman (van Emden 2008). Para ello, todas las variables se estandarizaron (transformación que lleva cada variable a una media de cero y desviación estándar de uno y así evitar diferencias en las escalas y unidades de medición) y evaluadas con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk en el programa STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc. 1984-2007).

Análisis de partición jerárquica

El análisis de partición jerárquica permite minimizar la influencia de la multicolinealidad, un problema estadístico común que ocurre cuando las variables independientes (variables explicativas) miden fenómenos similares y se encuentran altamente correlacionadas entre sí. El análisis de partición jerárquica es un método multivariado que permite identificar las contribuciones independientes de las variables explicativas sobre la variable de respuesta (Chevan y Sutherland 1991).

El análisis de partición jerárquica consiste en una técnica de regresión en la que todos los modelos lineales posibles son considerados, para tratar de identificar los factores explicativos más probables, partiendo este poder explicativo (mediante una medida de bondad de ajuste) en dos componentes: un componente independiente que se refiere a la contribución individual de cada variable explicativa sobre la variable de respuesta y un componente en conjunto que es producto de la interacción entre las variables explicativas (Mac Nally 2002; Olea et al. 2010).

El análisis se llevó a cabo mediante el paquete *hier.part* versión 1.0-4 (Walsh y Mac Nally 2013) en el programa R versión 3.4.3 (R Core Team 2017). El análisis incluyó regresiones lineales (familia Gaussiana) para evaluar las variables explicativas y el R cuadrado (R^2) como medida de ajuste de los modelos. Se utilizó la rutina de aleatorización del paquete para evaluar la significancia estadística de la contribución independiente de

cada variable (expresada en porcentaje), mediante una prueba Z a partir de 1,000 permutaciones aleatorias (Mac Nally 2002).

Como variables explicativas se utilizaron: % Bc, % Bp, % Btotal, ENN, TE y SPLIT para %Btotal en cada ventana de análisis (buffers 1 y 2) y como variable de respuesta se utilizó a las dos medidas de diversidad genética: Hd y π . Considerando las combinaciones de las variables explicativas sobre dos variables de respuesta, en dos ventanas espaciales por separado, se obtiene un total de cuatro modelos.

Correlaciones de Spearman

Para determinar la dirección o sentido de la relación entre las variables explicativas con porcentaje de contribución independiente que resultaron significativas y las variables de respuesta, se calculó el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman (ρ), debido a que no todas las variables presentaron una distribución normal después de ser estandarizadas.

RESULTADOS

Caracterización de los paisajes

La clasificación basada en las cinco clases de cobertura y uso del suelo, que sirvió de base para la caracterización de los paisajes se incluye en la Figura 2. La precisión de la clasificación fue del 85 %. En las Tablas 1 y 2 se presenta la información sobre la caracterización de los paisajes de los buffers 1 y 2, respectivamente. El sitio de muestreo Ro presentó los valores más altos de bosque conservado (Bc) en las dos ventanas de análisis: 58.10 % en el buffer 1 y 63.31 % en el buffer 2. Este sitio también presentó los valores más altos de bosque total (Btotal): 70.18 % en el buffer 1 y 73.15 % en el buffer 2. Contrariamente el sitio Ch presentó los valores más bajos de Bc: 7.09 % y 8.02 % en los buffers 1 y 2, respectivamente. Sin embargo, fue el sitio Ac el que presentó los valores más bajos de Btotal en las dos ventanas de análisis: 23.70 % en el buffer 1 y 18.23 % en el buffer 2.

En este último sitio (Ac) en el buffer 1, los fragmentos de Btotal se encontraban más aislados, con una distancia promedio entre fragmentos de 249.71 m, además este sitio fue el más subdividido (SPLIT = 24.20) (Tabla 1). Mientras que en la segunda ventana de análisis (buffers 2), el sitio Ac siguió siendo el más subdividido (SPLIT = 99.24), Li pasó a ser el sitio con los fragmentos más aislados: 158.91 m de distancia promedio (Tabla 2). Li fue el sitio con la menor cantidad de borde en las dos ventanas de análisis: 9,790 m (buffer 1) y 20,030 m (buffer 2).

Tabla 1. Resultados de los cálculos de las métricas de composición y configuración para cada sitio de muestreo en la ventana espacial de 1,000 m de radio (buffer 1) para las clases: bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y la unión de estas dos clases (Btotal).

Sitio	% Bc	% Bp	% Btotal	ENN Btotal (m)	TE Btotal (m)	SPLIT Btotal
Ch	7.09	21.45	28.54	92.47	10,950	15.29
Ro	58.10	12.08	70.18	70.89	11,650	2.27
Ac	10.42	13.28	23.70	249.71	12,880	24.20
Tz	30.62	0.00	30.62	74.16	13,000	10.69
Ca	18.45	21.88	40.33	69.80	16,270	8.11
Li	47.00	11.35	58.35	54.64	9,790	4.49

Sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej). ENN = distancia Euclidiana al vecino más cercano, TE = borde total, SPLIT = índice de división.

Tabla 2. Resultados de los cálculos de las métricas de composición y configuración para cada sitio de muestreo en la ventana espacial de 1,500 m de radio (buffer 2) para las clases: bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y la unión de estas dos clases (Btotal).

Sitio	% Bc	% Bp	% Btotal	ENN Btotal (m)	TE Btotal (m)	SPLIT Btotal
Ch	8.02	20.64	28.66	71.43	26,390	25.83
Ro	63.31	9.84	73.15	72.66	29,280	2.31
Ac	10.83	7.40	18.23	107.12	24,950	99.24
Tz	27.13	6.09	33.22	47.18	31,670	9.86
Ca	18.30	11.32	29.62	67.49	25,390	13.99
Li	47.23	15.66	62.89	158.91	20,030	2.66

Sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej). ENN = distancia Euclidiana al vecino más cercano, TE = borde total, SPLIT = índice de división.

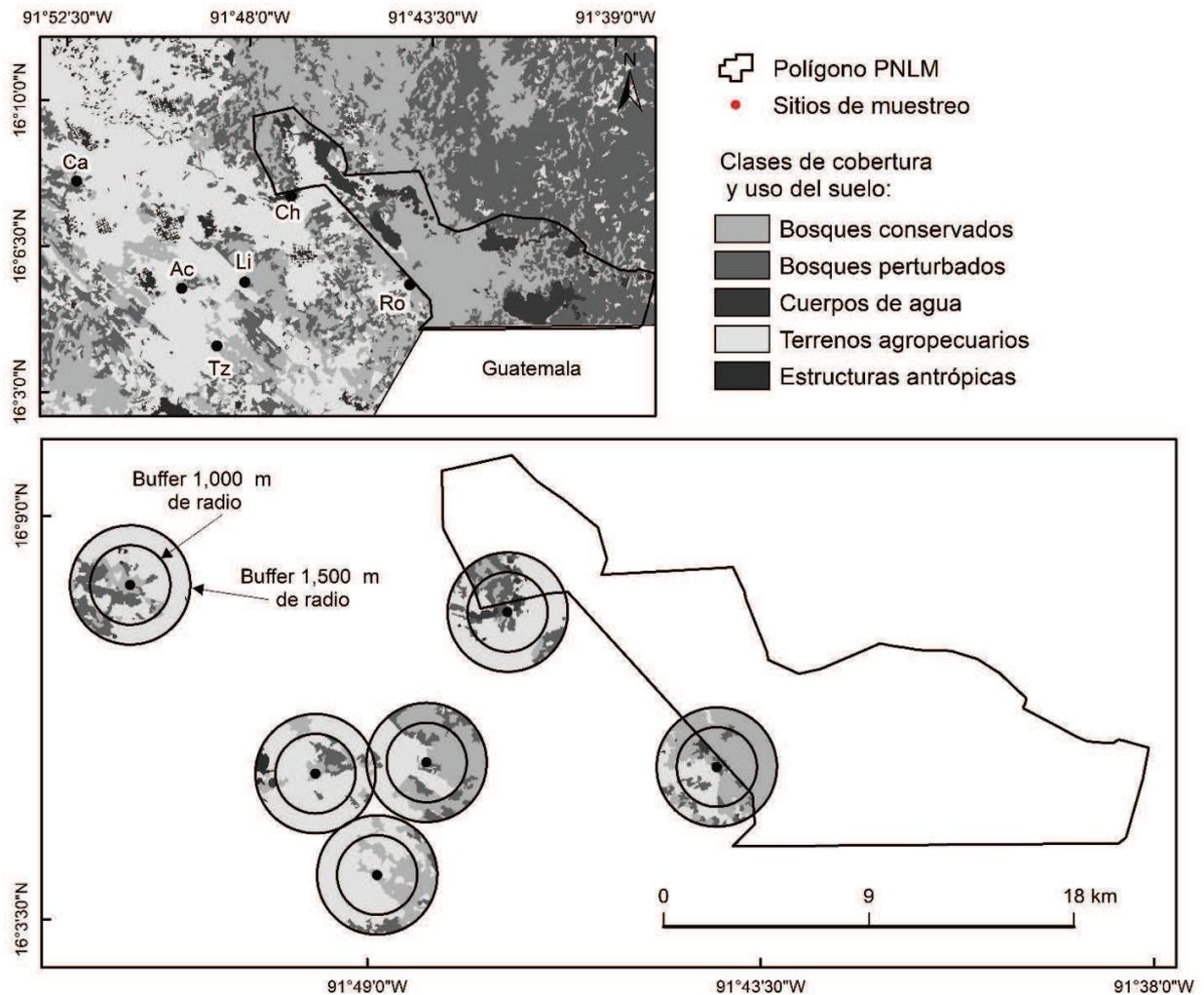


Figura 2. Clasificación de las clases de cobertura/uso del suelo en el área de estudio. En el acercamiento se indican las ventanas de análisis de 1,000 y 1,500 m de radio alrededor de los sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej).

Diversidad genética

En total se colectaron 97 muestras de tejido de individuos adultos y subadultos de *A. jamaicensis*: 25 muestras en el sitio Ch, 14 en el sitio Ro, 13 en el sitio Ac, 20 en el sitio Tz, 14 en el sitio Ca y 11 en el sitio Li. De las anteriores muestras, 82 fueron enviadas a secuenciar y de las cuales se obtuvieron 72 secuencias provenientes de un segmento de

la región control de ADNmt. Los análisis de diversidad genética se llevaron a cabo a partir de éstas 72 secuencias que constaban de 393 pb.

Los estimadores de diversidad genética para cada sitio de muestreo y para el conjunto total se presentan en la Tabla 3. En los sitios de muestreo, los valores de diversidad de haplotipos (H_d) varían de 0.857 a 0.981, mientras que los valores de la diversidad nucleotídica (π) varían de 0.027 a 0.043 y el número promedio de las diferencias nucleotídicas (k) de 10.179 a 14.042 (Tabla 3). Para el conjunto total, los análisis revelaron 42 haplotipos únicos, con 48 sitios segregados y valores de H_d , π y k , de 0.965, 0.039 y 12.821, respectivamente.

La red con los 42 haplotipos únicos se ilustra en la Fig. 3. El sitio Ch presentó el mayor número de haplotipos únicos ($h = 14$), mientras que Ca el menor número ($h = 5$). El haplotipo más frecuente fue H11 ($n = 9$), presente en cuatro de los seis sitios de muestreo. Le siguen H13 ($n = 8$) y H14 ($n = 5$), presentes en cuatro y cinco sitios de muestreo, respectivamente. Los restantes 20 haplotipos presentaron frecuencias de entre 1 - 4 individuos (Anexo 2). La mayoría de los haplotipos están separados por uno, dos o tres pasos mutacionales, el haplotipo H15 está separado por 16 pasos mutacionales de un haplotipo no muestreado (Fig. 3).

Tabla 3. Estimadores de diversidad genética a partir de un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial de *A. jamaicensis* por sitio de muestreo y en total.

Sitio de muestreo	n	♂	♀	h	Hd ± s.d.	S	π ± s.d.	k
Ch	16	13	3	14	0.975 ± 0.035	39	0.043 ± 0.003	14.042
Ro	14	10	3*	11	0.956 ± 0.045	32	0.033 ± 0.004	12.692
Ac	10	7	3	9	0.978 ± 0.054	31	0.035 ± 0.004	13.578
Tz	15	6	9	13	0.981 ± 0.031	37	0.033 ± 0.004	13.048
Ca	8	6	2	5	0.857 ± 0.108	27	0.027 ± 0.009	10.179
Li	9	8	1	8	0.972 ± 0.064	32	0.035 ± 0.004	13.639
Total	72	50	21	42	0.965 ± 0.011	48	0.039 ± 0.001	12.821

Sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej). n = número de secuencias analizadas en total y divididas por sexo, machos (♂) y hembras (♀); h = número de haplotipos únicos; Hd = diversidad de haplotipos ± la desviación estándar; S = número de sitios segregados; π = diversidad nucleotídica ± la desviación estándar; k = número promedio de diferencias nucleotídicas. * En el sitio Ro, no fue posible distinguir el sexo de un individuo.

Estructura genética

Las medidas de diferenciación genética pareadas entre los sitios de muestreo, con valores de Φ_{ST} que van de 0 hasta 0.149, no fueron significativas (Tabla 4). El análisis jerárquico de las poblaciones (AMOVA) tampoco reveló estructura genética (Tabla 5). El 100 % de la variación genética está distribuida dentro de las poblaciones, y el índice de fijación Φ_{ST} presentó un valor negativo ($\Phi_{ST} = -0.017$) que se interpreta como cero, lo que significa ausencia de diferenciación. Esta ausencia de estructura también se reflejó en las relaciones genéticas representadas en la red de haplotipos (Fig. 3).

Tabla 4. Valores de Φ_{ST} pareados entre los seis sitios de muestreo de *A. jamaicensis*, basados en un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial (parte inferior de la matriz). Las distancias geográficas en kilómetros entre los sitios se indican en la parte superior de la matriz.

	Ch	Ro	Ac	Tz	Ca	Li
Ch	---	6.014	5.794	6.705	8.822	3.907
Ro	-0.028	---	9.358	8.290	14.288	6.768
Ac	-0.051	-0.030	---	2.715	6.086	2.603
Tz	-0.012	0.015	-0.070	---	8.750	2.804
Ca	-0.006	-0.013	0.086	0.149	---	8.001
Li	-0.054	-0.060	-0.091	-0.061	0.044	---

Sitios de muestreo: Ch (Chinkultic), Ro (Nueva Rosita), Ac (Acachsnajab), Tz (Tzicumaltic), Ca (Campomá), Li (Licanusej).

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) que divide la variación genética total dentro y entre poblaciones, para un grupo de seis poblaciones de *A. jamaicensis*.

Fuente de variación	gl	SC	Componentes de variación	Porcentaje de variación	P
Entre poblaciones	5	31.73	-0.13 Va	-1.72	0.644
Dentro de poblaciones	66	523.23	7.93 Vb	101.72	
Total	71	554.96	7.80		
Índice de fijación (Φ_{ST})	-0.017				

gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, valor de P después de 10,000 permutaciones con una probabilidad $\alpha = 0.05$.

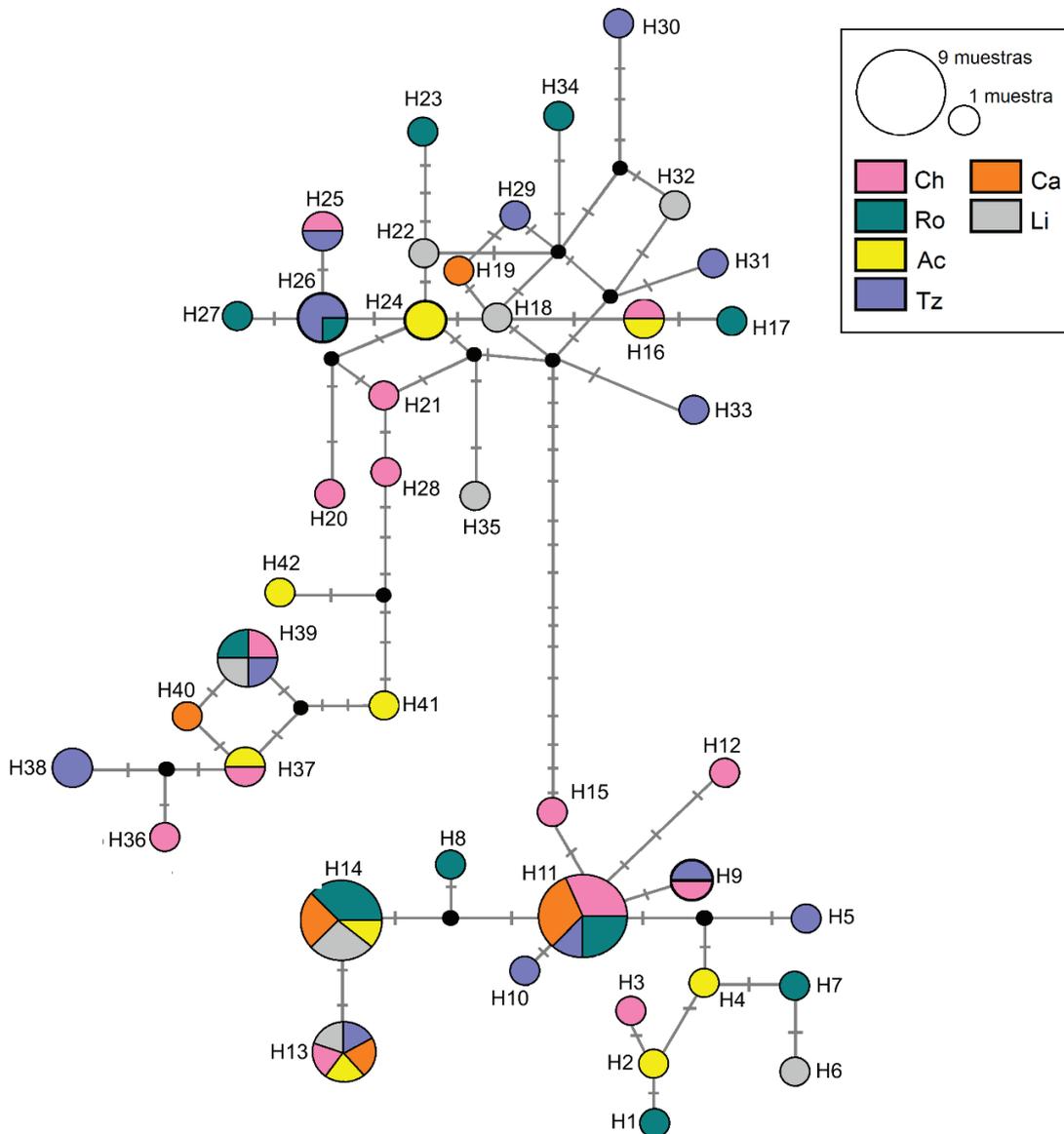


Figura 3. Red de haplotipos únicos identificados para *A. jamaicensis* a partir de 72 secuencias de ADNmt de la región control mediante el algoritmo *Median-Joining* (MJ). Cada círculo (nodo) representa un haplotipo único, el tamaño es proporcional al número de individuos que presentan un haplotipo dado, los colores representan los sitios de muestreo. Los círculos de color negro, denominados vectores medios, son interpretados como posibles haplotipos ausentes o no muestreados. Los pasos mutacionales están representado por las líneas sobre las conexiones entre dos haplotipos.

Tampoco se encontró una correlación significativa entre las magnitudes de las distancias genéticas y las de distancias geográficas ($R^2 = 0.171$, $P = 0.126$). Las distancias entre los sitios de muestreo van desde 2.715 km (entre los sitios Ac y Tz) hasta 14.288 km (entre Ca y Ro) (Tabla 4).

A pesar de que en los análisis anteriores no detectaron diferenciación genética, ésta se pudo detectar entre los grupos propuestos por el análisis de SAMOVA. El número de grupos (K) y las configuraciones de los sitios de muestreo incluidos en K se presentan en la Tabla 6. La configuración de $K = 3$, presentó diferenciación significativa entre los grupos ($\Phi_{CT} = 0.052$; $P = 0.01$): el primer grupo está compuesto únicamente por el sitio Ch, el segundo incluye a los sitios Ac, Tz, Li y el tercero a Ca y Ro, no obstante el valor de Φ_{CT} no fue el máximo. En la configuración de $K = 4$ el valor de Φ_{CT} es mayor (0.06369), pero marginalmente no significativo ($P = 0.05079$). En ambas propuestas de agrupación ($K = 3$ y $K = 4$) se repite la configuración de Ac, Tz y Li dentro de un mismo grupo y Ch como un grupo de una población.

Tabla 6. Resultados del análisis espacial de la varianza molecular (SAMOVA). Se indican el número de grupos (K) y las configuraciones de las poblaciones, los estadísticos Φ : Φ_{CT} entre grupos, Φ_{SC} entre poblaciones dentro de grupos, Φ_{ST} dentro de poblaciones, los valores P asociados y el porcentaje de variación de cada componente

K	Estadísticos Φ	Valores de p	% variación
2 grupos:	$\Phi_{CT} = 0.069$	0.16812	6.93
1. Ch, Ro, Ac, Tz, Li	$\Phi_{SC} = -0.035$	0.55921	-3.29
2. Ca	$\Phi_{ST} = 0.036$	0.64485	96.36
3 grupos:	$\Phi_{CT} = 0.052$	0.01762*	5.17
1. Ch	$\Phi_{SC} = -0.060$	0.37020	-5.68
2. Ro, Ca	$\Phi_{ST} = -0.005$	0.64535	100.51
3. Ac, Tz, Li			
4 grupos:	$\Phi_{CT} = 0.064$	0.05079**	6.37
1. Ch	$\Phi_{SC} = -0.074$	0.22099	-6.94
2. Ac, Tz, Li			
3. Ca	$\Phi_{ST} = -0.006$	0.64347	100.58
4. Ro			
5 grupos:	$\Phi_{CT} = 0.072$	0.06347	7.23
1. Ac, Li			
2. Ch	$\Phi_{SC} = -0.093$	0.13931	-8.63
3. Ro			
4. Tz	$\Phi_{ST} = -0.014$	0.64545	101.40
5. Ca			

Sitios de muestreo: Ch = Chinkultic, Ro = Nueva Rosita, Ac = Acachsnajab, Tz = Tzicumaltic, Ca = Campomá, Li = Licanusej. *Significativo y **marginalmente no significativo después de 10,000 permutaciones con un $\alpha = 0.05$.

Efecto de la estructura del paisaje sobre la diversidad genética

La variable TE presentó el porcentaje de contribución independiente más alto sobre Hd (43.09 %) y sobre π (49.87 %) en los buffers de 1,000 m de radio (Fig. 4). La variable con menor contribución independiente sobre Hd fue % Btotal (5.92 %) y sobre π fue % Bp

(2.21 %). La contribución independiente de TE sobre Hd y TE sobre π , resultó significativa en ambos casos (Anexo 3). La dirección de la relación TE sobre Hd y TE sobre π , resultó negativa en ambos casos.

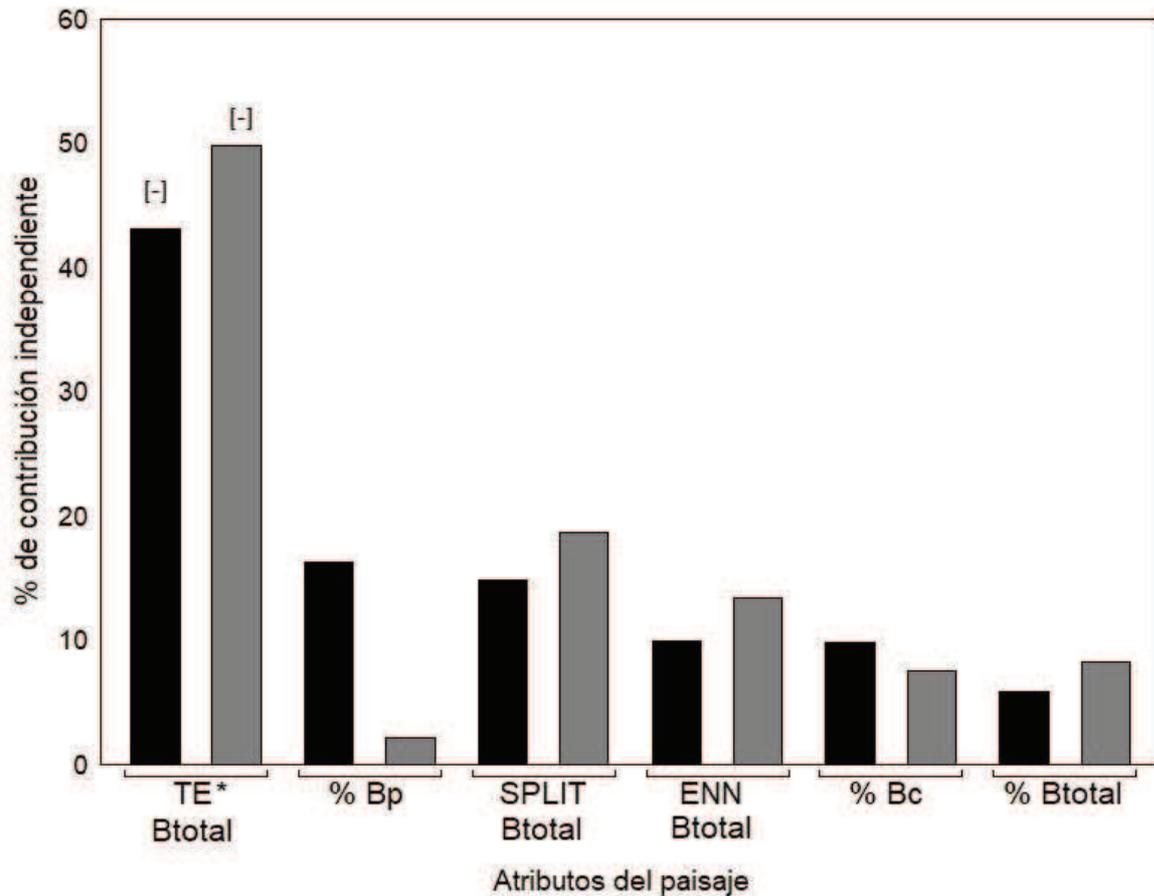


Figura 4. Porcentaje de contribución independiente de cada atributo del paisaje: porcentaje (%) de bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y bosque total (Btotal), ENN (distancia Euclidiana al vecino más cercano), TE (borde total) y SPLIT (índice de división) de Btotal sobre la diversidad de haplotipos, Hd (barras en negro) y diversidad de nucleótidos, π (barras en gris) en los buffers de 1,000 m de radio (Buffer 1). Los atributos con contribuciones significativas ($z \geq 1.65$) se indican con un asterisco (*). La dirección de la correlación se indica como positiva [+] o negativa [-].

La variable TE presentó el porcentaje de contribución independiente más alto sobre Hd (40.69 %) y la variable % Bp sobre π (32.92 %) en los buffers de 1,500 m de radio (Fig. 5). La variable con menor contribución independiente sobre Hd fue % Btotal (4.22 %) y sobre π fue SPLIT (6.89 %). Únicamente la contribución independiente de TE sobre Hd resultó significativa (Anexo 3). La dirección de la relación de TE sobre Hd fue positiva.

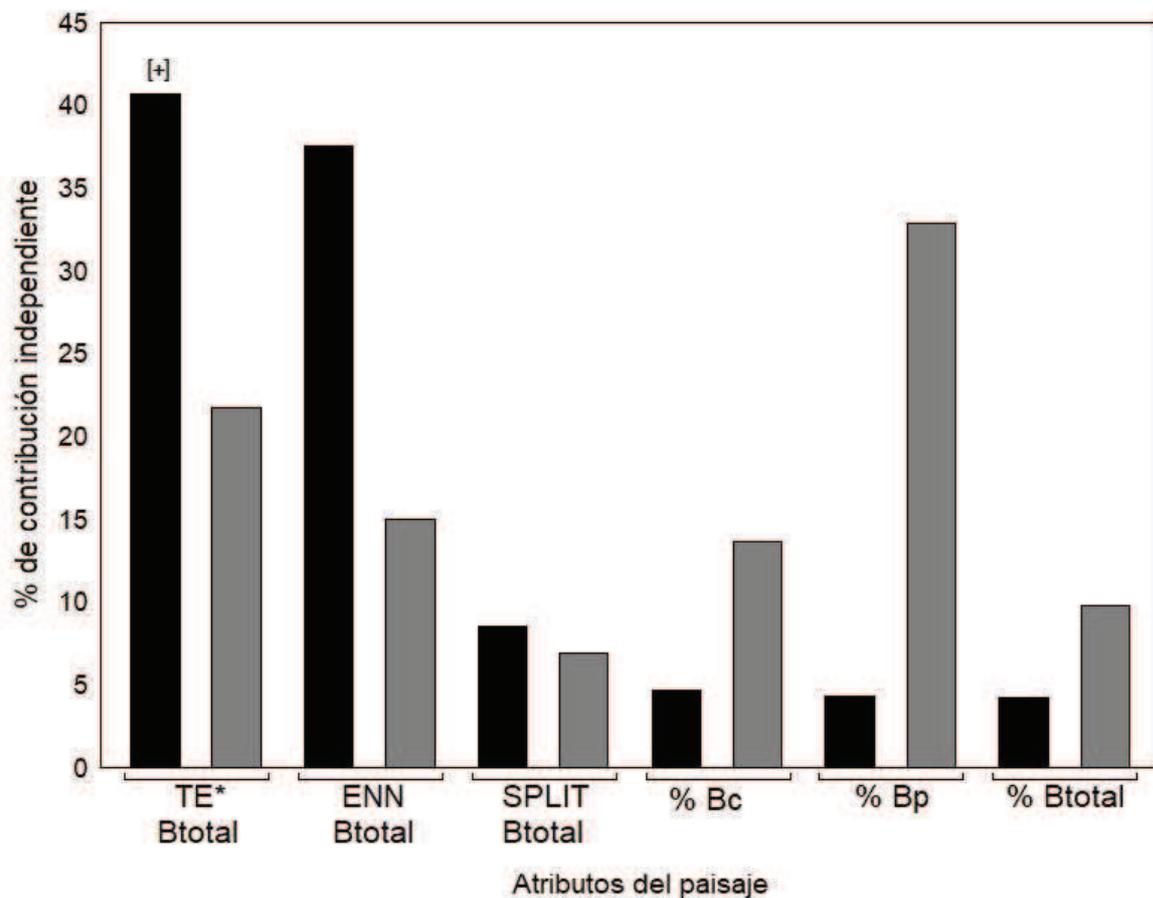


Figura 5. Porcentaje de contribución independiente de cada atributo del paisaje: porcentaje (%) de bosque conservado (Bc), bosque perturbado (Bp) y bosque total (Btotal), ENN (distancia Euclidiana al vecino más cercano), TE (borde total) y SPLIT (índice de división) de Btotal sobre la diversidad de haplotipos, Hd (barras en negro) y diversidad de nucleótidos, π (barras en gris) en los buffers de 1,500 m de radio (Buffer 2). Los atributos con contribuciones significativas ($z \geq 1.65$) se indican con un asterisco (*). La dirección de la correlación se indica como positiva [+] o negativa [-].

DISCUSIÓN

Diversidad genética

Los valores de diversidad genética obtenidos para *A. jamaicensis* en los sitios de muestreo fueron relativamente altos (valores de Hd entre 0.857 y 0.981, π de 0.027 a 0.043) y son similares a valores reportados en otros estudios que también emplearon a la región control del ADNmt como marcador molecular para esta especie (Hd = 1.00 en todos los sitios de muestreo y π de 0.020 a 0.029; Llaven-Macías et al. 2017) y para otras especies de filostómidos como *Carollia perspicillata* (Hd de 0.81 a 0.99; Meyer et al. 2009), *Carollia castanea* (Hd de 0.883 a 0.985; Ripperger et al. 2014), *Uroderma bilobatum* (Hd de 0.88 a 1.00; Meyer et al. 2009) y *Dermanura watsoni* (Hd de 0.902 a 0.991; Ripperger et al. 2013).

El sitio de muestreo Ca presentó un número de muestras bajo ($n = 8$) en relación al resto de sitios, lo que podría haber influido en los valores de diversidad genética obtenidos. Un número de muestras bajo (e.g. $n \leq 5$) puede producir estimaciones sesgadas, ya sea sobre o sub-estimación (Nei y Li, 1979; Nei, 1987). Un número de muestras bajo es común en este tipo de estudios que involucran la secuenciación de muestras de una sola especie, lo que se relaciona con la dificultad en la obtención de muestras (Goodall-Copestake et al. 2012). Aunque en este estudio, el número de muestras bajo, también podría estar relacionado con la forma de preservación de los tejidos. Agentes como el etanol y DMSO (dimetil sulfóxido) forman productos que pueden inhibir la PCR (Corthals et al. 2015). La totalidad de las muestras del sitio Ro colectadas en el año 2017, fueron amplificadas y secuenciadas. En cambio, las muestras provenientes del sitio Ca ($n = 8$), colectadas en el año 2014, sólo el 57% fueron amplificadas y secuenciadas.

La red de haplotipos permitió ilustrar la divergencia genética entre los 42 haplotipos únicos identificados, en donde se observa que los individuos que presentan el mismo haplotipo están relacionados entre sí y que estos haplotipos son compartidos entre varios sitios de muestreo. Por ejemplo, el haplotipo H11 está presente en nueve individuos, de los cuales tres provienen del sitio Ch, otros tres del sitio Ca, dos del sitio Ro y uno del sitio Tz (Fig. 3). La red de haplotipos también permitió evidenciar que la diversidad

genética no presentó una distribución geográfica que correspondiera a los sitios de muestreo. Lo anterior sugiere un intercambio genético entre los sitios de muestreo, lo cual fue corroborado con los análisis de diferenciación genética.

Estructura genética

Dado que las medidas de diferenciación genética por pares entre los sitios de muestreo no fueron significativas, lo que se interpreta como ausencia de diferenciación entre los sitios de muestreo, y de igual forma, la ausencia de diferenciación a nivel general (con un valor de Φ_{ST} negativo), hacen suponer un intercambio de genes entre los sitios de muestreo, probablemente por el movimiento de individuos entre estos sitios. En este sentido, *A. jamaicensis* en el área de estudio y a la escala geográfica del análisis, se comporta como una población panmítica. Lo anterior se respalda con la capacidad de dispersión alta de la especie, que en algunos contextos puede llegar a ser de hasta 8 km en promedio (Morrison 1978b). Llaven-Macías et al. (2017) encontraron ligera diferenciación genética ($F_{ST} = 0.054$; $P < 0.001$) entre dos poblaciones de *A. jamaicensis* localizadas en la llanura costera de Chiapas, separadas entre sí por aproximadamente 29 km. La distancia máxima entre los sitios de muestreo reportada en el presente estudio es de aproximadamente 14 km en línea recta. La prueba de Mantel, no reveló una relación significativa entre las magnitudes de las distancias geográficas y las magnitudes de las distancias genéticas, lo que hace suponer que *A. jamaicensis* es capaz de desplazarse distancias relativamente largas en el área de estudio, lo que a su vez implica que la matriz de terrenos agropecuarios en la que predomina un manejo intensivo y grandes extensiones de áreas abiertas, no representa una barrera para su desplazamiento. A pesar que la matriz representa un contraste alto con los fragmentos de bosque, parece ser que ésta provee de los recursos necesarios para esta especie, convirtiéndola en una matriz permeable para *A. jamaicensis*. Por ejemplo, la presencia de árboles frutales cultivados es común en el área de estudio, sobre todo en áreas cercanas a núcleos de población humana. De igual forma, elementos lineales como corredores de bosque ribereño fueron identificados cerca de algunos sitios de muestreo. Este tipo de elementos lineales proporcionan rutas de vuelo o áreas de alimentación para los murciélagos (De la Peña-Cuéllar et al. 2014) y potencialmente ayudan a mantener la conectividad.

Aunque se reportó una ligera diferenciación ($\Phi_{CT} = 0.052$, $P = 0.01762$) entre los grupos sugeridos por el análisis SAMOVA con $K = 3$, sin embargo la configuración de grupos sugerida, incluye dentro de un mismo grupo a las poblaciones de los sitios más alejados entre sí (Ca y Ro) y la resultante distribución de los sitios de muestreo no permite identificar algún tipo de barrera que ayude a explicar la diferenciación entre los grupos.

Efecto de la estructura del paisaje sobre la diversidad genética

La cantidad de borde presente en los paisajes, al menos en las ventanas espaciales de 1,000 m de radio, tiene una contribución importante y significativa sobre la diversidad genética de *A. jamaicensis*: contribución independiente de 43.09 % sobre Hd y de 49.86 % sobre π . La dirección de la relación entre TE y la diversidad genética (Hd y π) fue negativa, lo que implica en términos generales que, a mayor cantidad de borde en un paisaje (paisaje más fragmentado), menor diversidad genética y viceversa. Esta relación negativa también se ha reportado con otras métricas de borde (e.g. densidad de borde) y la riqueza de especies de murciélagos y la abundancia de individuos (e.g. Santos-Moreno et al. 2014; Arroyo-Rodríguez et al. 2016). Sin embargo, en la siguiente escala de análisis (ventanas espaciales de 1,500 m), TE contribuyó de manera significativa únicamente sobre Hd (40.69 %) con una relación positiva. De igual forma, esta relación positiva también ha sido reportada en estudios que implementan métricas de borde sobre la riqueza y abundancia de murciélagos (e.g. Bolívar-Cimé et al. 2013).

Las magnitudes de diversidad genética para *A. jamaicensis* en el área de estudio podrían estar influenciadas por atributos del paisaje relacionados con la configuración, no obstante, lo anterior resulta contrario a lo reportado por Jackson y Fahrig (2016) a partir de simulaciones que ponen a prueba la importancia relativa de la cantidad de hábitat (composición) y la configuración del paisaje para producir una estructura genética en poblaciones hipotéticas. Estos autores (Jackson y Fahrig 2016) encontraron que a pesar de comportamientos y capacidades de dispersión diferentes y de la calidad de los bordes, los efectos de la configuración del paisaje son débiles en comparación con los efectos de la composición del paisaje sobre la diferenciación genética. Lo anterior podría deberse a que la cantidad de hábitat se encarga de mediar la diferenciación genética al regular el

tamaño y grado de aislamiento de los fragmentos, y a su vez el tamaño de las poblaciones y el flujo génico (Jackson y Fahrig 2016).

Cushman et al. 2012 en cambio reportan, de igual forma a través de simulaciones, que la configuración del paisaje tiene mayor influencia en la diferenciación genética en comparación con la composición del paisaje, lo cual lo relacionan con la creación de patrones espaciales heterogéneos de flujo génico. Sin embargo, sus conclusiones se basan en métricas de configuración que se encuentran correlacionadas altamente con la cantidad de hábitat (Cushman et al. 2012).

La importancia de la escala temporal

En el área de estudio, la historia de uso agrícola podría remontarse hasta la primera mitad del siglo XVIII, período en el que las haciendas dedicadas a la producción de caña de azúcar y ganado eran frecuentes en el área (Ruz 1992; Pulido-Solís 2000). Sin embargo, cambios de uso del suelo que permitieron un mayor avance de la frontera agrícola sobre las áreas aún forestadas, se empezaron a producir de manera más frecuente durante la segunda mitad del siglo XX, después de la creación del parque (Lara-Visconti 2000). La mayoría de estudios que abordan los impactos de perturbaciones como la pérdida y fragmentación sobre la diversidad genética neutral, a pesar de ser desarrollados en contextos con regímenes de perturbación histórica, se han centrado en un solo evento de perturbación relativamente reciente (Davies et al. 2016). En términos genéticos, la duración y la intensidad de estos regímenes de perturbación históricos determinan en gran medida la elección del marcador molecular que pueda cuantificar la relación entre atributos del paisaje y el flujo génico contemporáneos (Anderson et al. 2010; Davies et al. 2016).

La región control del ADNmt se ha convertido en una herramienta común para evaluar la diversidad y estructura genética a nivel de poblacional, además de ser utilizada para detectar firmas genéticas producidas por disminuciones poblacionales recientes, aunque poco se ha evaluado sobre la sensibilidad y el rendimiento del marcador sobre este último aspecto. Esta popularidad se debe en parte, al hecho de que la región control es la de más rápida evolución en el genoma mitocondrial (Jackson et al. 2013). A pesar que el ADNmt presenta tasas de evolución de cinco a diez veces más rápida que el ADN

nuclear de una sola copia (la mayoría de genes importantes presentan ADN de una sola copia), registra pocas huellas de eventos contemporáneos (Wan et al. 2004).

Los marcadores moleculares más comúnmente empleados en estudios de genética del paisaje son los microsatélites (de ADN nuclear), pues en la mayoría de los casos son los más adecuados para evaluar las consecuencias de la pérdida y la fragmentación contemporáneas (Anderson et al. 2010) pues presentan tasas de mutación elevadas (Wan et al. 2004).

El flujo de genes en el ADN mitocondrial

Una propiedad del ADNmt que es importante destacar debido a su posible influencia en los resultados obtenidos, es el hecho que el flujo de genes en este genoma está mediado por un solo sexo (generalmente por vía materna), y por lo tanto, los patrones espaciales de la variación genética pueden ocurrir a diferentes escalas espaciales (Anderson et al. 2010).

Se asume que en sistemas de organización social basados en la poliginia, la dispersión está mediada por los machos, quienes tienden a dispersarse más para evitar la consanguinidad y/o la competencia, mientras que las hembras son filopátricas (Rossiter et al. 2012). Este comportamiento de dispersión es común en murciélagos de zonas templadas, pero en murciélagos Neotropicales son pocas las especies con este comportamiento (Nagy y Knörnschild 2016). En *A. jamaicensis* no es del todo claro si presenta este patrón de dispersión. Se ha reportado en cambio, en cuevas de la península de Yucatán, hembras más móviles que los machos dominantes, por lo que la fidelidad a los refugios es baja por parte de las hembras y alta por parte los machos dominantes (Ortega y Arita 2000). Lo anterior es contrario a lo reportado por Morrison (1978b) en Panamá, en donde las hembras muestran fidelidad alta a los refugios (troncos huecos).

Ripperger et al. (2014) al evaluar la estructura genética por sexo (por medio de la región control del ADNmt) para una especie de filostómido de talla corporal menor, *Carollia castanea*, no encontraron diferenciación genética entre las poblaciones para las hembras pero sí para los machos. Estos autores (Ripperger et al. 2014) argumentan que sus resultados coinciden con un patrón de dispersión mediado por hembras y filopatría

en machos, lo que resulta en una ocurrencia local de machos relacionados por vía materna. Este patrón de dispersión es poco común en mamíferos, pero ha sido reportado en otras dos especies de filostómidos: *Carollia perspicillata* y *Phyllostomus hastatus* (Nagy y Knörnschild 2016).

En el presente estudio se reportan más machos que hembras ($\sigma = 50$, $\text{♀} = 21$; Tabla 3), aunque se debe tomar en cuenta que las hembras en estado de gestación fueron excluidas de la toma de muestras. Sin embargo, estos resultados podrían reflejar la ocurrencia de machos relacionados por vía materna en los sitios de muestreo, además podrían reflejar una estructura sexual, sesgada hacia las hembras.

La importancia de la escala espacial

La escala espacial, que involucra la extensión espacial y la resolución espacial (o tamaño de pixel), es determinante en la cuantificación de las métricas que describen los paisajes (Pascual-Hortal y Saura 200; Anderson et al. 2010). La escala espacial del presente trabajo es comparable a las escalas de los trabajos de Meyer et al. (2009) y Ripperger et al. (2013): número de sitios de muestreo, distancia mínima entre los sitios de muestreo, tamaño de pixel y tamaño de fragmentos. Sin embargo en estos trabajos, las especies de filostómidos analizadas presentaron ligera diferenciación genética: *Uroderma bilobatum* de talla corporal mediana (13-20 g; Reid 2009) con $F_{ST} = 0.01$ ($P < 0.05$) (Meyer et al. 2009); *Carollia perspicillata* de talla corporal mediana (10-16 g; Reid 2009) con $F_{ST} = 0.06$ ($P < 0.02$) (Meyer et al. 2009) y *Dermanura watsoni* de talla corporal pequeña (9-15 g; Reid 2009) con $F_{ST} = 0.052$ ($P < 0.00001$).

A pesar de tener una escala espacial comparable con estos estudios, las escalas de análisis de los paisajes (1,000 y 1,500 m de radio), posiblemente no fueron las más adecuadas para *A. jamaicensis*. Según Rodríguez-Arroyo et al. (2016), la escala del paisaje se relaciona con las distancias de dispersión y el ámbito hogareño de las especies. La distancia máxima reportada para *A. jamaicensis* en sus movimientos diarios es de 8 km en promedio (bosque continuo), aunque esta distancia es menor en paisajes fragmentados, 2.7 km (Bernard y Fenton 2003) y 1.2 km (Bianconi et al. 2006) en promedio. El área requerida por los murciélagos para completar su ciclo de vida (ámbito hogareño) es mucho mayor al área que requieren para forrajeo (Arnone et al. 2016). Sin

embargo restricciones en el área de estudio (distancias entre los sitios de muestreo), no hicieron posible incluir escalas de análisis mayores (buffers con mayores radios).

Implicaciones para la conservación

La diversidad genética es la materia prima para la evolución, pues de ésta dependen tanto la adaptación como la especiación. La diversidad genética en una población refleja su potencial evolutivo, es decir, su habilidad para evolucionar en respuesta a cambios ambientales (Frankham et al. 2002). En el área de estudio, se puede esperar que *A. jamaicensis* mantenga su potencial evolutivo, dado que los valores de diversidad genética obtenidos a partir de la región control de ADNmt resultaron relativamente altos.

Uno de los patrones generales observados en estudios enfocados en conservación que utilizan los niveles de diversidad genética para hacer inferencias, es el que establece que poblaciones grandes y panmíticas, presentan niveles altos de diversidad genética, mientras que las poblaciones pequeñas tienen niveles de diversidad genética bajos. No obstante, las predicciones evolutivas no siempre se cumplen con los patrones de diversidad genética observados (Rocha y Gasca 2007).

La pérdida de diversidad genética compromete el potencial evolutivo de las poblaciones y reduce sus probabilidades de persistencia a largo plazo. Aunque es importante destacar, que la variación genética adaptativa es la principal determinante de la habilidad de las especies para evolucionar (Frankham 2005). Las especies se enfrentan a constantes cambios ambientales (e.g. cambio climático como consecuencia del calentamiento global, contaminación, introducción de especies, enfermedades y parásitos, entre otros), por lo que el enfoque de conservar los procesos evolutivos y el mantener la capacidad de respuesta evolutiva de las especies ante estos cambios, ha cobrado auge en la disciplina de Genética de la Conservación (Rocha y Gasca 2007).

El principal desafío que supone el componente genético para la conservación, es el manejo de poblaciones silvestres fragmentadas, en especial, poblaciones de especies amenazadas. Existe evidencia de poblaciones fragmentadas que están siendo afectadas por erosión genética (pérdida de diversidad genética y consanguinidad) (Frankham 2010) y aunque este no es el caso de *A. jamaicensis*, podría serlo en un futuro cercano para

otras especies en el área, en especial para aquellas con dificultad para movilizarse entre fragmentos de bosque.

En todo el mundo, los bosques continuarán siendo transformados a usos del suelo destinados principalmente a la agricultura y ganadería, lo ocasionará en algunos casos que las áreas protegidas se aislen cada vez más y este parece ser el caso del PNLM. Las áreas protegidas no deben ser implementadas únicamente para representar especies, sino que idealmente éstas deben y deberán representar, y de igual forma, garantizar la continuidad de procesos ecológicos y evolutivos (Koleff y Urquiza-Haas 2011).

En general, la pérdida de los fragmentos boscosos alrededor de las áreas protegidas, puede llegar a reducir la capacidad de conservación de dichas áreas, aun cuando el bosque dentro de sus límites administrativos se mantenga intacto (Defries et al. 2005). Los fragmentos de bosque fuera de los límites de las áreas protegidas aumentan la capacidad de conservación, ya que ayudan a mantener poblaciones grandes y proporcionan recursos para los animales fuera de sus límites, como pareciera ser el caso para *A. jamaicensis* en el área de estudio.

Debido a lo anterior, los esfuerzos de conservación implementados en el PNLM también deberán propiciar la conservación de los fragmentos boscosos fuera del parque y matrices en las que predominen prácticas agrícolas en donde el contraste matriz-bosque pueda ser atenuado. En específico para el caso de los murciélagos, estudios como los Saldaña-Vázquez et al. (2010), García-Estrada et al. (2012) y Wordley et al. (2015) demuestran que matrices en donde predominan prácticas agroforestales como cultivos de café bajo sombra, debido a la complejidad de la vegetación (número de estratos vegetales), además de proveer de recursos a murciélagos con diferentes requerimientos alimenticios, podrían actuar como corredores que facilitan la conectividad paisajística.

CONCLUSIONES

Los valores de diversidad genética para *Artibeus jamaicensis* en el área de estudio son relativamente altos, en especial los valores de diversidad de haplotipos (Hd). Si se comparan los valores obtenidos en este estudio con los valores obtenidos en otros estudios que también utilizaron ADNmt como marcador molecular, éstos son similares. Sin embargo, es importante destacar que los contextos y las presiones a las que se enfrentan las poblaciones de *A. jamaicensis* son diferentes, por lo que se resalta el enfoque contexto-específico de este estudio.

Los resultados obtenidos sugieren que *A. jamaicensis* en el área de estudio se trata de una sola población con intercambio de genes (población panmítica), probablemente debido al movimiento de individuos entre los fragmentos de bosque. Además sugieren que la distancia entre los fragmentos de bosque y la matriz no representan impedimento para la especie. La vagilidad de la especie, estrechamente asociada a la capacidad de dispersión, junto con otros rasgos de historia de vida (e.g. comportamiento reproductivo, hábito generalista) podrían explicar la ausencia de estructura genética para la especie en el área de estudio.

Las magnitudes de diversidad genética podrían estar influenciadas por un atributo relacionado con la configuración de los paisajes, el borde total. Este atributo del paisaje presentó mayor contribución significativa sobre la diversidad genética. Sin embargo, es necesario incluir buffers de mayor tamaño para poder encontrar patrones que sean consistentes, pues los resultados obtenidos en las escalas espaciales incluidas de 1,000 y 1,500 m de radio son ambiguos

RECOMENDACIONES

Incluir en los análisis de diversidad y estructuración genética microsatélites provenientes de *loci* nucleares, éstos a diferencia del ADNmt se heredan de forma biparental y presentan otras características que los hacen más adecuados para evaluar los posibles efectos de la transformación del paisaje reciente (Wan et al. 2004).

Incorporar la importancia de la matriz a los análisis. Algunos autores sugieren que el modelo IBD es insuficiente para explicar la diversidad genética en términos de una matriz compleja. En este sentido, la resistencia impuesta por la matriz, o contrariamente la permeabilidad, es la que puede llegar a determinar la distancia genética o la diferenciación entre los sitios de muestreo (Anderson et al. 2010). Recientemente se han desarrollado aproximaciones fundamentadas a partir de diferentes bases teóricas que toman en cuenta a la matriz, como por ejemplo aislamiento por resistencia (IBR, *Isolation by Resistance*). Con este enfoque, el modelo IBD podría considerarse como modelo nulo (la dispersión ocurre en un espacio geográfico homogéneo y no se incluye información sobre otros atributos del paisaje) e incluir un análisis de IBR, que toma en cuenta la heterogeneidad del paisaje y distancias de resistencia (provenientes de un análisis de *Least cost path* que toma en cuenta los efectos de la fricción del paisaje sobre los movimientos individuales de los organismos) (McRae 2006).

Además, es necesario evaluar los patrones de uso de hábitat y de movimiento para *Artibeus jamaicensis* y otras especies de filostómidos en el área de estudio. Sin embargo, estudiar los patrones de movimiento de las especies representa un reto metodológico, no sólo por el método en sí (radiotelemetría), sino porque también en algunos casos el área requerida por los murciélagos para completar su ciclo de vida puede traspasar fronteras políticas entre países e incluir varios biomas. Por lo que monitoreos que incluyan marcaje y recaptura de individuos, podrían proporcionar información sobre abundancias y variaciones temporales, así como aproximaciones sobre las distancias de movimientos y otros datos sobre la biología de las especies en paisajes fragmentados. Por ejemplo, las métricas de conectividad funcional requieren de umbrales de distancias de dispersión que podrían ser obtenidos a partir de los monitoreos.

LITERATURA CITADA

- Achard F, Beuchle R, Mayaux P, Stibig HJ, Bodart C, Brink A, Carboni S, Desclée B, Donnay F, Eva HD, Lupi A, et al. 2014. Determination of tropical deforestation rates and related carbon losses from 1990 to 2010. *Glob Change Biol* 20:2540-2554.
- Aguilar-Arias H, Mora-Zamora R, Vargas-Bolaños C. 2014. Metodología para la corrección de imágenes Aster, Rapideye, Spot 2 y Landsat 8 con el módulo FLAASH del software ENVI. *Revista Geográfica de América Central* 53:39-59.
- Álvarez-Castañeda ST, Álvarez T, González-Ruiz N. 2015. Guía para identificar los mamíferos de México en campo y laboratorio. Guadalajara: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. y Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C.; p 522.
- American Museum of Natural History (AMNH). 2018. Wing Punch and Hair Sampling Protocols. Available from: <http://research.amnh.org/vz/mammalogy/donating-bat-tissue-and-hair-samples-genomic-and-stable-isotope-studies/wing-punch-and-hair-sampling>.
- Anderson CD, Epperson BK, Fortin MJ, Holderegger R, James PMA, Rosenberg MS, et al. 2010. Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Mol Ecol* 19:3565-3575.
- Anthony ELP. 1988. Age determination in bats: In: Kunz TH, editor. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press; p 47-58.
- Arnone IS, Trajano E, Pulchério-Leite A, de Camargo-Passos. 2016. Long-distance movement by a great fruit-eating bat, *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818), in southeastern Brazil (Chiroptera, Phyllostomidae): evidence for migration in Neotropical bats? *Biota Neotrop* 16(1): e0026.
- Arroyo-Rodríguez V, Rojas C, Saldaña-Vázquez RA, Stoner KE. 2016. Landscape composition is more important than landscape configuration for phyllostomid bat assemblages in a fragmented biodiversity hotspot. *Biol Conserv* 198:84-92.
- Ávila-Cabadilla LD, Sánchez-Azofeifa GA, Stoner KE, Álvarez-Añorve MY, Quesada M, Portillo-Quintero CA. 2012. Local and Landscape factors determining occurrence of Phyllostomid bats in tropical secondary forests. *PLoS ONE* 7(4): e35228.

- Baguette M, Blanchet S, Legrand D, Stevens VM, Turlure C. 2013. Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biol Rev* 88:310-326.
- Balkenhol N, Cushman SA, Storfer A, Waits LP. 2016. Introduction to landscape genetics-concepts, methods, applications. In: Balkenhol N, Cushman SA, Storfer AT, Waits LP, editors. *Landscape genetics: concepts, methods, applications*. UK: Wiley Blackwell; p 1-7.
- Bandelt HJ, Foster P, Röhl A. 1999. Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37-48.
- Bennett AF, Saunders DA. 2010. Habitat fragmentation and landscape change. In: Sodhi NS, Ehrlich PR, editors. *Conservation Biology for All*. New York: Oxford University Press Inc.; p 88-104.
- Bernard E, Fenton MB. 2003. Bat mobility and roosts in a fragmented landscape in Central Amazonia, Brazil. *Biotropica* 35(2):262-277.
- Bianconi GV, Mikich SB, Pedro WA. 2006. Movements of bats (Mammalia, Chiroptera) in atlantic forest remnants in southern Brazil. *Rev Bras Zool* 23(4):1199-1206.
- Blaschke T, Hay GJ, Kelly M, Lang S, Hofmann P, Addink E, Queiroz-Feitosa R, van der Meer F, van der Werff H, van Collie F, Tiede D. 2014. Geographic object-based image analysis – towards a new paradigm. *ISPRS J Photogram Remote Sens* 87:180-191.
- Bolívar-Cimé B, Laborde J, MacSwiney MC, Muñoz-Robles C, Tun-Garrido J. 2013. Response of phytophagous bats to patch quality and landscape attributes in fragmented tropical semi-deciduous forest. *Acta Chiropterol* 15(2):399-409.
- Bolton PE, West AJ, Cardilini APA, Clark JA, Maute KL, Legge S, Brazil-Boast J, Griffith SC, Rollins LA. 2016. Three molecular markers show no evidence of population genetic structure in the Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*). *PLoS ONE* 11(12): e0167723.
- Boulding EG. 2008. Genetic diversity, adaptive potential and population viability in changing environments. In: Carroll SP, Fox CW, editors. *Conservation Biology: evolution in action*. New York, USA: Oxford University Press; p 212-232.
- Burland TM, Worthington-Wilmer J. 2001. Seeing in the dark: molecular approaches to the study of bat populations. *Biol Rev* 76:389-409.

- Burns LE, Broders HG. 2014. Correlates of dispersal extent predict the degree of population genetic structuring in bats. *Conserv Genet* 15:1371-1379.
- Carlson MC. 1954. Floral elements of the pine-oak-Liquidambar forest of Montebello, Chiapas, Mexico. *B Torrey Bot Club* 81(5):387-399.
- Carstens BC, Sullivan J, Davalos LM, Larnern PA, Pedersen SC. 2004. Exploring population genetic structure in three species of Lesser Antillean bats. *Mol Ecol* 13:2557-2566.
- Chevan A, Sutherland M. 1991. Hierarchical partitioning. *Am Stat* 45(2):90-96.
- Chuvieco E. 1990. Fundamentos de teledetección espacial. Tratamiento digital de imágenes. 2^{da} ed. Alcalá (Madrid): Ediciones RIALP, S.A.; p 451.
- Ciborowski KL, Consuegra S, García de Leániz C, Beaumont MA, Wang J, Jordan WC. 2007. Rare and fleeting: an example of interspecific recombination in animal mitochondrial DNA. *Biol Lett* 3:554-557.
- Corthals A, Martin A, Warsi OM, Woller-Skar M, Lancaster W, Russell A, et al. 2015. From the field to the lab: best practices for field preservation of bat specimens for molecular analysis. *PLoS ONE*. 10(3): e0118994.
- Cushman SA, McGarigal K, Neel MC. 2008. Parsimony in landscape metrics: strength, universality, and consistency. *Ecol Indic* 8:691-703.
- Cushman SA, Shirk A, Landguth EL. 2012. Separating the effects of habitat area, fragmentation and matrix resistance on genetic differentiation in complex landscapes. *Landscape Ecol* 27(3):369–380.
- Davies ID, Cary GJ, Landguth EL, Lindenmayer DB, Banks SC. 2016. Implications of recurrent disturbance for genetic diversity. *Ecol Evol* 6(4):1181–1196.
- De la Peña-Cuéllar E, Benítez-Malvido J, Ávila-Cabadilla LD, Martínez-Ramos M, Estrada A. 2014. Structure and diversity of phyllostomid bats assemblages on riparian corridors in a human-dominated tropical landscape. *Ecol Evol* 5(4): 903-913.
- Defries R, Hansen A, Newton AC, Hansen MC. 2005. Increasing isolation of protected areas in tropical forests over the past twenty years. *Ecol Appl* 15:19-26.
- Diniz-Filho JAF, Pires de Campos-Telles M, Bonatto SL, Eizirik E, de Freitas TRO, de Marco P, Santos FR, Sole-Cava A, Nascimento-Soares T. 2008. Mapping the evolutionary twilight zone: molecular markers, populations and geography. *J*

Biogeogr 35:753-763.

- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of population. *Mol Ecol* 11: 2571-2581.
- Eastman JR. 2012. IDRISI selva tutorial: manual versión 17. Clark Labs, Clark University; p 354.
- Evelyn MJ, Stiles DA. 2003. Roosting requirements of two frugivorous bats (*Sturnira lilium* and *Artibeus intermedius*) in fragmented Neotropical forest. *Biotropica* 53(3):405-418.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform* 1:47-50.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2006. Arlequin ver 3.1 user manual. Computational and Molecular Populations Genetics lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Brene; p 145.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of Molecular Variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Fahrig L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487-515.
- Fierro-Fierro F. 2014. Electroforesis de ADN. En: Cornejo-Romero A, Serrato-Díaz A, Rendón-Aguilar B, Rocha-Munive MG, compiladoras. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I); p 27-51.
- Fleming TH, Murray KL. 2009. Population and genetic consequences of hurricanes for three species of West Indian phyllostomid bats. *Biotropica* 42(2):250-256.
- Flores-Martínez JJ, Ortega J, Ibarra-Manríquez G. 2000. El hábito alimentario del murciélago zapotero (*Artibeus jamaicensis*) en Yucatán. *Rev Mexi Mastozoología* 4:22-39.
- Fluxus Technology Ltd. 2015. Network 5.0.0.0 User guide. Fluxus Technology Ltd. p. 55.
- Forman RTT, Godron M. 1986. Landscape ecology. New York: John Wiley y Sons, Inc.

p. 640.

- Frankham R. 2003. Genetics and conservation biology. *C R Biologies* 326:S22-S29.
- Frankham R. 2005. Genetics and extinction. *Biol Conserv* 126:131-140.
- Frankham R. 2010. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biol Conser* 143:1919-1927.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2002. Genetic diversity (Chapter 3). *Introduction to conservation genetics*. New York, USA: Cambridge University Press; p 45-71.
- Freeland JR, Kirk H, Petersen S. 2011. Molecular markers in ecology (Chapter 2). *Molecular ecology*. 2nd ed. UK: Wiley-Blackwell; p 29-52.
- Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GDD. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol Ecol* 18:4541-4550.
- García-García JL, Santos-Moreno A. 2014. Efectos de la estructura del paisaje y de la vegetación en la diversidad de murciélagos filostómidos (Chiroptera: Phyllostomidae) de Oaxaca, México. *Rev Biol Trop* 62(1):217-239.
- García-Estrada C, Damon A, Sánchez-Hernández C, Soto-Pinto L, Ibarra-Núñez G. 2012. Diets of frugivorous bats in montane rain forest and coffee plantations in southeastern Chiapas, Mexico. *Biotropica* 44(3): 394–401.
- Garrido-Garduño T, Vázquez-Domínguez E. 2013. Métodos de análisis genéticos, espaciales y de conectividad en genética del paisaje. *Rev Mexi Biodivers* 84:1031-1054.
- Goodall-Copestake WP, Tarling GA, Murphy EJ. 2012. On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: a case study using the gene *cox1* in animals. *Heredity* 109:50-56.
- Grajeda-Godínez AL. 2004. Impacto de la transformación del hábitat sobre la diversidad de murciélagos en la región de Lagos de Montebello, Chiapas, México. (Tesis en el grado de Maestría). El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR); p 51.
- Hadley AS, Betts MG. 2016. Refocusing habitat fragmentation research using lessons from the last decade. *Curr Landscape Ecol Rep* 1:55-66.
- Hamilton MB. 2009. Molecular evolution (Chapter 8). *Population genetics*. UK: Wiley-Blackwell; p 235-282.

- Heideman PD. 2000. Environmental regulation of reproduction. In: Crichton EG, Krutzsch PH, editors. Reproductive biology of bats. London: Academic Press; p 469-495.
- Höglund J. 2009. Genetic diversity in changing environments (Chapter 4). Evolutionary Conservation Genetics. USA: Oxford University Press; p 60-80.
- Holderegger R, Kamm U, Gugerli F. 2006. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecol* 21:797–807.
- Holderegger R, Wagner HH. 2008. Landscape genetics. *Bioscience* 58:199–207.
- Holsinger KE, Weir BS. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat Rev Genet* 10:639-650.
- Hughes RA, Inouye BD, Johnson MTJ, Underwood N, Vellend M. 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol Lett* 11:609–623.
- Jackson H, Morgan BJT, Groombridge JJ. 2013. How closely do measures of mitochondrial DNA control region diversity reflect recent trajectories of population decline in birds? *Conserv Genet* 14(6):1291–1296
- Jackson ND, Fahrig L. 2016. Habitat amount, not habitat configuration, best predicts population genetic structure in fragmented landscapes. *Landscape Ecol* 31:951–968.
- Jaeger JAG. 2000. Landscape division, splitting index, and effective mesh size: New measures of landscape fragmentation. *Landscape Ecol* 15(2):115–130.
- Johansson M, Primmer CR, Merilä J. 2007. Does habitat fragmentation reduce fitness and adaptability? A case study of the common frog (*Rana temporaria*). *Mol Ecol* 16:2693-2700.
- Kraker-Castañeda C, Santos-Moreno A, Lorenzo C, Horváth A, MacSwiney MC, Navarrete-Gutiérrez D. 2017. Responses of phyllostomid bats to forest cover in upland landscapes in Chiapas, southeast Mexico. *Stud Neotrop Fauna E* 52(2):112-121.
- Koleff P, Urquiza-Haas T. 2011. Conservación de la diversidad terrestre: planeación, reflexiones y lecciones aprendidas. En Koleff P, Urquiza-Haas T, coordinadoras. Planeación para la conservación de la biodiversidad terrestre en México: retos en un país megadiverso. México D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso

- de la Biodiversidad (CONABIO) y Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP); p 173-201.
- Kunz TH, Díaz CA. 1995. Folivory in fruit-eating bats, new evidence from *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Biotropica* 27(1):106-120.
- Ladoukakis ED, Zouros E. (2017). Evolution and inheritance of animal mitochondrial DNA: rules and exceptions. *J Biol Res-Thessaloniki* 24:2-7.
- Lara-Visconti C. 2000. Uso del territorio en Tziscaco, Chiapas: dinámica y percepción social. (Tesis en el grado de Maestría). ECOSUR; p 30.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna, R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23:2947-2948.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v.5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.
- Lindenmayer DB, Fischer J. 2006. How landscapes change (Chapter 2). *Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis*. Washington DC: Island Press; p 15-25.
- Llaven-Macías V, Ruiz-Montoya L, García-Bautista M, Leshner-Gordillo J, Machkour M'Rabet S. 2017. Genetic diversity and structure of *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Chiapas, Mexico. *Acta Zool Mex* 33(1):55-66.
- Lu D, Weng Q. 2007. A survey of image classification methods and techniques for improving classification performance. *Int J Remote Sens* 28(5):823-870.
- Ma L, Ji YJ, Zhang DX. 2015. Statistical measures of genetic differentiation of populations: rationales, history and current states. *Curr Zool* 61(5):886-897.
- Mac Nally R. 2002. Multiple regression and inference in ecology and conservation biology: further comments on identifying important predictor variables. *Biodivers Conserv* 11:1397-1401.
- Machado R, Godinho S, Pirnat J, Neves N, Santos P. 2018. Assessment of landscape composition and configuration via spatial metrics combination: conceptual framework proposal and method improvement. *Landscape Res* 43(5):652-664.
- Maine JJ, Boyles JG. 2015. Bats initiate vital agroecological interactions in corn. *Proc Natl Acad Sci* 12(40):12438-12443.

- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trend Ecol Evol* 18(4):189-197.
- Martínez-Sánchez J. 2005. Frugívoros voladores y la dispersión de semillas en el Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas, México. (Tesis en el grado de Maestría). ECOSUR; p 40.
- McCulloch ES, Tello SJ, Whitehead A, Rolón-Mendoza CMJ, Maldonado-Rodríguez MCD, Stevens RD. 2013. Fragmentation of Atlantic Forest has not affected gene flow of a widespread seed-dispersing bat. *Mol Ecol* 22:4619-4633.
- McGarigal K, Cushman S, Regan C. 2005. Quantifying terrestrial habitat loss and fragmentation: A protocol. Amherst, MA: University of Massachusetts, Department of Natural Resources Conservation. p. 113.
- McGarigal K, Ene E. 2013. Fragstats 4.2 v4.2.1.603: Spatial pattern analysis program for categorical and continuous maps. Amherst: University of Massachusetts. Available from: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>.
- McGarigal K, Marks BJ. 1995. Fragstats. Spatial pattern analysis program for quantifying landscape structure. Version 2.0. USDA Forest Service General Technical Report; p141.
- McGarigal K. 2015. Fragstats help. Fragstats 4.2: Spatial pattern analysis program for categorical and continuous maps. University of Massachusetts.
- McRae BH. 2006. Isolation by resistance. *Evolution* 60:1551-1561
- Meirmans PG, Hedrick PW. 2011. Assessing population structure: F_{ST} and related measures. *Mol Ecol Resour* 11:5-18.
- Meyer CFJ, Kalko EKV, Kerth G. 2009. Small-scale fragmentation effects on local genetic diversity in two phyllostomid bats with different dispersal abilities in Panama. *Biotropica* 1:95-102.
- Meyer CFJ, Struebig MJ, Willig MR. 2016. Responses of tropical bats to habitat fragmentation, logging, and deforestation. In: Voigt CC, Kingston T, editors. *Bats in the Anthropocene: conservation of bats in a changing world*. Switzerland: Springer International Publishing; p 63-103.

- Miller B, Reid F, Arroyo-Cabrales J, Cuarón AD, de Grammont PC. 2008. *Artibeus jamaicensis*. The IUCN red list of threatened species 2008: .T2135A9272998. Available from:<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T2135A9272998.en>
- Morrison DW. 1978a. Foraging ecology and energetics of the frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*. *Ecology* 59(4):716-723.
- Morrison DW. 1978b. Influence of habitat on the foraging distances of the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *J Mammal* 59(3):622-624.
- Morrison DW. 1978c. Lunar phobia in a Neotropical fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Anim Behav* 26:852-855.
- Morrison DW. 1979. Male defense of tree hollows in the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *J Mammal* 60(1):11-15.
- Nagy M, Knörnschild M. 2016. Sex-biased dispersal and social systems of Neotropical Emballonurids. In: Ortega J. *Sociality in bats*. Switzerland: Springer International Publishing; p 47-65.
- Nei M, Li W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases (molecular evolution/mitochondrial DNA/nucleotide diversity). *Proc Natl Acad Sct* 76(10):5269-5273.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press; p 512.
- Norberg UM, Rayner MV. 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia: Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 326(1179):335-427.
- Olea PP, Mateo-Tomás P, de Frutos A. 2010. Estimating and modelling bias of the hierarchical partitioning public-domain software: implications in environmental management and conservation. *PLoS ONE* 5(7): e11698.
- Ortega J, Arita HT. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *J. Mammal.* 80(4):1173-1185.
- Ortega J, Arita HT. 2000. Defence of females by dominant males of *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Ethology.* 106:395-407.
- Ortega J, Castro-Arellano I. 2001. *Artibeus jamaicensis*. *Mamm Species* 662:1-9.

- Ortega J, Maldonado JE. 2006. Female interactions in harem groups of the Jamaican fruit-eating bat, *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Acta Chiropterol* 8: 485-495.
- Ortega J, Maldonado JE, Wilkinson GS, Arita HT, Fleischer RC. 2003. Male dominance, paternity, and relatedness in the Jamaican fruit-eating bat (*Artibeus jamaicensis*). *Mol Ecol* 12:2409-2415.
- Parker PG, Snow AA, Schug MD, Booton GC, Fuerst PA. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using molecular markers. *Ecology* 79(2):361-382.
- Pascual-Hortal L, Saura S. 2007. Impact of spatial scale on the identification of critical habitat patches for the maintenance of landscape connectivity. *Landscape and Urban Planning* 83:176–186.
- Pinto N, Keitt TH. 2008. Scale-dependent responses to forest cover displayed by frugivore bats. *Oikos* 117:1725-1731.
- Preciado-Benítez O, Gómez B, Navarrete-Gutiérrez DA, Horváth A. 2015. The use of commercial fruits as attraction agents may increase the seed dispersal by bats to degraded areas in southern Mexico. *Trop Conserv Sci* 8(2):301-317.
- Pulido-Solís, MT. 2000. Haciendas de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez: CONECULTA-Chiapas; p 556.
- Pumo DE, Finamore PS, Franer WR, Phillips CJ, Tarzami S, Balzarano D. 1998. Complete mitochondrial genome of a Neotropical fruit bat, *Artibeus jamaicensis*, and a new hypothesis of the relationships of bats to other Eutherian mammals. *J Mol Evol* 47:709–717.
- Pumo DE, Goldin EZ, Elliot B. 1988. Mitochondrial DNA polymorphism in three Antillean island populations of the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *Mol Biol* 5(1):79-89.
- R Core Team. 2017. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available from: <http://www.R-project.org/>.
- Ramírez-Marcial N, González-Espinosa M, Camacho-Cruz A, Ortiz-Aguilar D. 2010. Forest restoration in Lagunas de Montebello National Park, Chiapas, Mexico. *Ecol Restor* 28(3):354-360.

- Reid F. 2009. A field guide to the mammals of Central America and Southeast Mexico. New York: Oxford University Press Inc.; p 321.
- Ripperger SP, Tschapka M, Kalko EKV, Rodriguez-Herrera B, Mayer F. 2014. Resisting habitat fragmentation: high genetic connectivity among populations of the frugivorous bat *Carollia castanea* in an agricultural landscape. *Agric Ecosyst Environ* 185:9-15.
- Ripperger SP, Tschapka M, Kalko EKV, Rodriguez-Herrera B, Mayer F. 2013. Life in a mosaic landscape: anthropogenic habitat fragmentation affects genetic population structure in a frugivorous bat species. *Conserv Genet* 14:925-934.
- Rocha M, Gasca J. 2007. Ecología molecular de la conservación. En: Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X, compiladores. *Ecología molecular*. México D.F.: SEMARNAT, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Autónoma de México (UNAM), CONABIO; p 251-272.
- Rodríguez-Herrera B, Medellín RA, Timm RM. 2007. Murciélagos neotropicales que acampan en hojas. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio); p 178.
- Rossiter SJ, Zubaid A, Mohd-Adnan A, Struebig MJ, Kunz TH, Gopal S, Petit EJ, Kingston T. 2012. Social organization and genetic structure: insights from codistributed bat populations. *Mol Ecol* 21:647–661
- Ruiz EA, Vargas-Miranda B, Zúñiga G. 2013. Late-Pleistocene phylogeography and demographic history of two evolutionary lineages of *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Mexico. *Acta Chiropterol* 15(1):19-33.
- Ruz MH. 1992. Savia india, floración ladina. Apuntes para una historia de las fincas comitecas (siglos XVIII y XIX). CONACULTA; p 415.
- Saldaña-Vázquez RA, Sosa VJ, Hernández-Montero JR, López-Barrera F. 2010. Abundance responses of frugivorous bats (Stenodermatinae) to coffee cultivation and selective logging practices in mountainous central Veracruz, Mexico. *Biodivers Conserv* 19:2111–2124.
- SEMARNAT y CONANP. 2011. Programa de Conservación Parque Nacional Lagunas de Montebello. México D.F.: Editorial EDM. p. 189.

- Sikes RS, the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2016. 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *J Mammal* 92(1):235–253.
- Tajima F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105: 437-460.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tavira-Noriega, L. 1988. Formación histórica de la comunidad de Tzisco en la frontera chiapaneca (1886-1986). (Tesis en el grado de Licenciatura). Área de Ciencias Sociales, Universidad Autónoma de Chiapas; p 88.
- Tischendorf L, Fahrig L. 2000. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90:7-19.
- Turner MG, Gardner RH, O'Neill RV. 2001. *Landscape ecology in theory and practice: pattern and process*. New York: Springer-Verlag; p 389.
- Van Emden HF. 2008. Linear regression and correlation (Chapter 17). *Statistics for Terrified Biologists*. Blackwell Publishing; p 238-266.
- Vázquez-Domínguez E, Mendoza-Martínez A, Orozco-Lugo L, Cuarón AD. 2013. High dispersal and generalist habits of the bat *Artibeus jamaicensis* on Cozumel Island, México: an assessment using molecular genetics. *Acta Chiropterol* 15(2):411-421.
- Verbyla DL. 1995. *Satellite remote sensing of natural resources*. Boca Raton (FL): CRC Press, Inc.; p 198.
- Voigt CC, Kingston T. 2016. Bats in the Anthropocene. In: Voigt CC, Kingston T, editors. *Bats in the Anthropocene: conservation of bats in a changing world*. Switzerland: Springer International Publishing; p 1-12.
- Waits LP, Storfer A. 2016. Basics of population genetics: quantifying neutral and adaptive genetic variation for landscape genetic studies. In: Balkenhol N, Chushman SA, Storfer AT, Waits LP, editors. *Landscape genetics: concepts, methods, applications*. UK: Wiley Blackwell; p 35-57.
- Walsh C, Mac Nally R. 2013. hier.part: Hierarchical Partitioning. R Package, version 1.0-4. <http://cran.au.r-project.org>.

- Wan QH, Wu H, Fujihara T, Fang SG. 2004. Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis* 25:2165-2176.
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6):1358-1370.
- Wilkinson GS, Chapman AM. 1991. Length and sequence variation in evening bat D-loop mtDNA. *Genetics* 128:607-617.
- Wilson MC, Chen XY, Corlett RT, Didham RK, Ding P, Holt RD, et al. 2016. Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges. *Land Ecol* 31:219–227.
- Wordley CRF, Sankaran M, Mudappa D, Altringham JD. 2015. Landscape scale habitat suitability modelling of bats in the Western Ghats of India: Bats like something in their tea. *Biol Conserv* 191: 529–536.
- Worthington-Wilmer JW, Barratt E. 1996. A non-lethal method of tissue sampling for genetic studies of chiropteran. *Bat Res News* 37:1-3.
- Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Comput Biol* 7(1-2):203-214.
- Zuckerberg B, Carling MD, Dor R, Ferree ED, Spellman GM, Townsend AK. 2013. Differential relationships between habitat fragmentation and within-population genetic diversity of three forest-dwelling birds. doi: <https://doi.org/10.1101/004903>

ANEXOS

Anexo 1. Secuencias (n = 72) de un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial de *A. jamaicensis* incluidas en los análisis de diversidad y estructuración genética. Se indica la localidad del sitio de muestreo, coordenadas geográficas en grados decimales: para cada secuencia se indica el código del tejido entre paréntesis y el número de catálogo de la Colección Mastozoológica de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas (ECO-SC-M).

Ejido Hidalgo, Zona Arqueológica Chinkultic, 16.127566°, -91.783527°: (Ch02) ECO-SC-M 8806; (Ch06) ECO-SC-M 8810; (Ch08) ECO-SC-M 8812; (Ch10) ECO-SC-M 8814; (Ch16) ECO-SC-M 8820; (Ch17) ECO-SC-M 8821; (Ch18) ECO-SC-M 8822; (Ch19) ECO-SC-M 8823; (Ch20) ECO-SC-M 8824; (Ch22) ECO-SC-M 8826; (Ch25) ECO-SC-M 8829; (Ch28) ECO-SC-M 8832; (Ch29) ECO-SC-M 8833; (Ch31) ECO-SC-M 8835; (Ch38) ECO-SC-M 8871; (Ch39) ECO-SC-M 8872.

Ranchería Nueva Rosita, 16.092076°, -91.734969°: (Ro01) ECO-SC-M 8843; (Ro02) ECO-SC-M 8844; (Ro03) ECO-SC-M 8845; (Ro04) ECO-SC-M 8846; (Ro05) ECO-SC-M 8847; (Ro06) ECO-SC-M 8848; (Ro07) ECO-SC-M 8849; (Ro08) ECO-SC-M 8850; (Ro09) ECO-SC-M 8851; (Ro10) ECO-SC-M 8856; (R011) ECO-SC-M 8857; (Ro12) ECO-SC-M 8858; (R013) ECO-SC-M 8859; (Ro17) ECO-SC-M 8863.

Ranchería Acachsnajab, 16.091100°, -91.828547°: (Ac04) ECO-SC-M 8393; (Ac05) ECO-SC-M 8394; (Ac06) ECO-SC-M 8395; (Ac08) ECO-SC-M 8397; (Ac12) ECO-SC-M 8425; (Ac14) ECO-SC-M 8427; (Ac15) ECO-SC-M 8428; (Ac19) ECO-SC-M 8432; (Ac20) ECO-SC-M 8433; (Ac21) ECO-SC-M 8434.

Ranchería Tzicumaltic, 16.067995°, -91.814293°: (Tz04) ECO-SC-M 8439; (Tz05) ECO-SC-M 8440; (Tz06) ECO-SC-M 8441; (Tz10) ECO-SC-M 8444; (Tz14) ECO-SC-M 8448; (Tz15) ECO-SC-M 8449; (Tz16) ECO-SC-M 8450; (Tz17) ECO-SC-M 8451; (Tz18) ECO-SC-M 8452; (Tz20) ECO-SC-M 8454; (Tz21) ECO-SC-M 8455; (Tz22) ECO-SC-M 8456; (Tz25) ECO-SC-M 8459; (Tz26) ECO-SC-M 8460; (Tz27) ECO-SC-M 8461.

Ejido El Progreso, Rancho La Loma, 16.134208°, -91.871497°: (Ca02) ECO-SC-M 8331; (Ca03) ECO-SC-M 8332; (Ca06) ECO-SC-M 8350; (Ca12) ECO-SC-M 8356; (Lo01) ECO-SC-M 8852; (Lo02) ECO-SC-M 8853; (Lo04) ECO-SC-M 8855; (Lo05) ECO-SC-M 8855.

Aguaje Licanusej del Ejido Hidalgo, 16.091100°, -91.828544°: (Li06) ECO-SC-M 8325; (Li10) ECO-SC-M 8329; (Li19) ECO-SC-M 8341; (Li21) ECO-SC-M 8343; (Li23) ECO-SC-M 8345; (Li25) ECO-SC-M 8347; (Li27) ECO-SC-M 8349; (Li31) ECO-SC-M 8414; (Li37) ECO-SC-M 8418.

Anexo 2. Lista de haplotipos únicos (h = 42) para una muestra de 72 secuencias de un segmento de 393 pares de bases de la región control de ADN mitocondrial de *A. jamaicensis*

Haplotipo	Secuencia	Frecuencia	Haplotipo	Secuencia	Frecuencia
H1	Ro01	1	H17	Ro09	1
H2	Ac04	1	H18	Li19	1
H3	Ch02	1	H19	Ca06	1
H4	Ac12	1	H20	Ch17	1
H5	Tz26	1	H21	Ch20	1
H6	Li23	1	H22	Li25	1
H7	Ro13	1	H23	Ro11	1
H8	Ro12	1	H24	Ac05,Ac15	2
H9	Ch06, Tz16	2	H25	Ch29, Tz06	2
H10	Tz17	1	H26	Tz04, Tz05, Ro07	3
H11	Tz20, Ch08, Ch22, Ch38, Ro02, Ro08, Lo01, Ca02, Ca03	9	H27	Ro10	1
H12	Ch28	1	H28	Ch31	1
H13	Ch25, Ac20, Tz18, Lo02, Li06	5	H29	Tz15	1
H14	Ro04, Ro05, Ro06, Ac21, Lo04, Lo05, Li10, Li27	8	H30	Tz25	1
H15	Ch19	1	H31	Tz14	1
H16	Ch10, Ac06	2	H32	Li21	1
			H33	Tz10	1
			H34	Ro03	1
			H35	Li37	1
			H36	Ch16	1
			H37	Ch29, Ac08	2
			H38	Tz22, Tz27	2
			H39	Ch18, Ro17, Tz21, Li31	4
			H40	Ca12	1
			H41	Ac14	1
			H42	Ac19	1

Anexo 3. Resultados de los análisis de partición jerárquica y de la aleatorización.

Porcentajes de contribución independiente (% CI) de los atributos del paisaje para los buffers de 1,000 m de radio para las variables de respuesta Hd y π .

Atributo del paisaje	Hd		π	
	% CI	Valor Z	% CI	Valor Z
TE Btotal	43.09	2.13*	49.86	2.80*
% Bp	16.34	-0.03	2.21	-1.25
SPLIT Btotal	14.86	-0.19	18.73	0.22
ENN Btotal	9.97	-0.45	13.44	-0.25
% Bc	9.81	-0.70	7.52	-0.93
% Btotal	5.92	-1.05	8.236	-0.82

*Significativo ($Z \geq 1.65$).

Porcentajes de contribución independiente (% CI) de los atributos del paisaje para los buffers de 1,500 m de radio para las variables de respuesta Hd y π .

Atributo del paisaje	Hd		π	
	% CI	Valor Z	% CI	Valor Z
TE Btotal	40.69	2.04*	21.70	0.48
ENN Btotal	37.51	1.63	15.04	-0.11
SPLIT Btotal	8.56	-0.54	6.89	-0.80
% Bc	4.71	-1.13	13.67	-0.32
% Bp	4.31	-1.14	32.92	1.45
% Btotal	4.22	-1.23	9.78	-0.62

*Significativo ($Z \geq 1.65$).

Anexo 4. Artículo sometido a la revista *Mammal Research*.

Mammal Research
Contribution of landscape attributes on the genetic diversity of *Artibeus jamaicensis*
Leach, 1821
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Contribution of landscape attributes on the genetic diversity of <i>Artibeus jamaicensis</i> Leach, 1821
Article Type:	Original Article
Corresponding Author:	Elida Maria Leiva-González El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) San Cristóbal de Las Casas, Chiapas MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Elida Maria Leiva-González
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Elida Maria Leiva-González Dario Navarrete-Gutiérrez Lorena Ruiz-Montoya Antonio Santos-Moreno Cristian Kraker-Castañeda Marcela García-Bautista
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	It is commonly assumed that bats due to their flight capacity are not affected by landscape attributes in small geographic scales. However, recent studies carried out with phyllostomid bats have found evidence of negative responses, specifically decreasing genetic diversity with decreasing forest amount in areas dominated by agricultural lands. The purpose of this study was to evaluate if landscape composition and configuration could be influencing the genetic diversity of a common frugivorous bat: <i>Artibeus jamaicensis</i> . We worked in an area characterized by the presence of extensive agricultural lands, with a trend towards open spaces of high contrast with forests. Through mtDNA control region sequences, we inferred high levels of genetic diversity in the sampling sites. In order to determine a possible relationship between genetic diversity and landscape attributes, we employed a multivariate analysis that allowed us to determine the independent contribution (percentage of explained variance) of each explanatory variable included in the models. We found a negative relationship between genetic diversity and total forest edge, which is a variable that reflects the degree of fragmentation. This approach can be implemented in landscape genetic studies, and allows determining correlations with spatially explicit variables.
Suggested Reviewers:	Sergio Solari, Dr. Faculty member, Universidad de Antioquia sergio.solari@udea.edu.co Dr. Solari is a bat specialist, familiarized with molecular techniques. Bernal Rodríguez, Dr. Faculty member, Universidad de Costa Rica bernal.rodriguez@ucr.ac.cr Dr. Rodríguez has broad research experience with Neotropical bats.

Powered by Editorial Manager® and Production Manager® from Aries Systems Corporation