



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
ECOLOGÍA

**CONECTIVIDAD FUNCIONAL DEL VENADO COLA BLANCA**  
**(*Odocoileus virginianus*, Zimmermann 1780) EN LA RESERVA DE LA**  
**BIÓSFERA DE SIERRA GORDA GUANAJUATO: IMPLICACIONES**  
**EN LA CONSERVACIÓN Y MANEJO.**

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**DIANA ALEJANDRA GUTIÉRREZ CORTÉS**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ**  
**CORREA. ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. SANTIAGO ALEJANDRO RAMÍREZ BARAHONA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**  
**DR. LÁZARO GUEVARA LÓPEZ**  
**INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. ENERO, 2025**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y  
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL**

(Graduación con trabajo escrito)

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo a lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

CONECTIVIDAD FUNCIONAL DEL VENADO COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*, Zimmermann 1780) EN LA RESERVA DE LA BIÓSFERA DE SIERRA GORDA GUANAJUATO: IMPLICACIONES EN LA CONSERVACIÓN Y MANEJO.

Que presenté para obtener el grado de MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, es original, de mi autoría y lo realicé con rigor metodológico exigido por el Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referenciadas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de obtención de mi grado académico.

**Atentamente**

**GUTIÉRREZ CORTÉS DIANA ALEJANDRA**  
No de cuenta UNAM: 521000923

**(Nombre, firma y número de cuenta del estudiante)**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
ECOLOGÍA

**CONECTIVIDAD FUNCIONAL DEL VENADO COLA BLANCA**  
**(*Odocoileus virginianus*, Zimmermann 1780) EN LA RESERVA DE LA**  
**BIÓSFERA DE SIERRA GORDA GUANAJUATO: IMPLICACIONES**  
**EN LA CONSERVACIÓN Y MANEJO.**

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**DIANA ALEJANDRA GUTIÉRREZ CORTÉS**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ**  
**CORREA. ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. SANTIAGO ALEJANDRO RAMÍREZ BARAHONA**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM  
**DR. LÁZARO GUEVARA LÓPEZ**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

**MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. ENERO, 2025**

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA.  
OFICIO: CGEP/CPCB/ENESMO/0817/2024  
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informarle a usted, que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **10 de junio de 2024**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología**, de la estudiante **GUTIERREZ CORTES DIANA ALEJANDRA** con número de cuenta **521000923** con la tesis titulada **“Conectividad funcional del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*, Zimmermann 1780) en la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda Guanajuato: Implicaciones en la conservación y manejo”**, realizada bajo la dirección del **DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ CORREA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ  
Vocal: DRA. YESSICA RICO MANCEBO DEL CASTILLO  
Vocal: DRA. TANIA GARRIDO GARDUÑO  
Vocal: DR. JUAN FELIPE CHARRE MEDELLÍN  
Secretario: DR. LÁZARO GUEVARA LÓPEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 07 de noviembre de 2024

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO**



c. c. p. Expediente del alumno

ACBB/JHP/EARR/jhp

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES.**

Expreso mi más sincero agradecimiento al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por brindarme la oportunidad de desarrollar mis conocimientos y habilidades en un ambiente académico de excelencia. Gracias a esta formación, he podido crecer tanto a nivel personal como profesional.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por su invaluable apoyo a la investigación científica en México. La beca número 1085233 fue fundamental para la realización de este proyecto y contribuyó significativamente a mi formación en la investigación.

A mi tutor y amigo el Dr. Hernando A. Rodríguez Correa, gracias primero por la oportunidad de formar parte de este grupo de trabajo, por tu apoyo y guía en todo el desarrollo del proyecto, por los regaños cuando fue necesario, por el subsidio para lograr terminar, por todos los esfuerzos invertidos en este proyecto, del que a veces no sabíamos que esperar... gracias por formar una parte importante de mi red de apoyo y ser una inspiración para todos.

A los miembros del comité tutor Dr. Santiago Ramírez y Dr. Lázaro Guevara, gracias por todos sus aportes a este trabajo, por conducirme con sus observaciones en cada tutorial, los aprecio y admiro, me llevo una gran experiencia al aprender de ustedes.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL.**

Agradezco a todos los que de manera directa o indirecta apoyaron este trabajo, gracias por sus enseñanzas en la teoría y práctica y por las palabras de ánimo que tanto necesité.

Mi más sincero agradecimiento a mi comité sinodal, las doctoras Ella Vázquez Domínguez, Yessica Rico Mancebo del Castillo y Tania Garrido Garduño, así como a los doctores Lázaro Guevara López y Juan Felipe Charre Medellín, cuyos valiosos comentarios contribuyeron significativamente a enriquecer esta investigación y el formato final de este documento.

Al Dr. Juan Felipe Charre Medellín (Pipo), le agradezco porque a través de su inquietud por la conservación surgió la idea para comenzar esta investigación, gracias por tus aportaciones para el desarrollo de este trabajo desde el inicio, por todo tu apoyo en el trabajo de campo y por iniciarme a usar Arcmap (jaja) eres un gran mentor y amigo.

Al Dr. Jesús Llanderal por estar al pie del cañón ayudándome en la estandarización de los protocolos de laboratorio, sus enseñanzas prácticas y por las decenas (¿o cientos?) de muestras que me ayudó a secuenciar. A la Dra. Yesenia Vega y el Dr. Jaime Gasca Pineda por su ayuda en el proceso de estandarización, gracias a su orientación se logró obtener el set de datos de secuencias COI de esta tesis. A todos los que participaron en las colectas de campo: Pipo, Raúl Álvarez, Sergio Marrugo, Manuel y los guías de campo, agradezco todo su esfuerzo y dedicación, los momentos divertidos y la convivencia

A mis compañeros del laboratorio de Biología Neotropical, Sergio Marrugo, Sofía Zorrilla y Melissa Naranjo, gracias todo lo que han aportado a mi formación académica y personal, su apoyo en resolver dudas metodológicas, de laboratorio, en seminarios y simplemente por estar, ustedes han sido de las personas que más me han apoyado en momentos difíciles en el transcurso de estos años, los quiero y admiro mucho. A la Sra. Clau, Yarelita y Xcaret, gracias por hacer el tiempo de laboratorio más ameno y apoyarme con sus conocimientos en la práctica.

A mis papás Ángeles Cortés y Javier Gutiérrez, gracias por todo lo que me han brindado para llegar a este momento de mi formación profesional y, en especial, a mi hermanito Víctor Hugo quien me ofreció su apoyo incondicional en el momento en que pensaba dejar todo. Gracias por tu corazón noble y generoso. No solo estoy muy agradecida de que hayas creído en mí, sino que también estoy muy orgullosa de ti. ¡Estamos logrando un sueño que nuestros papás anhelaron y no tuvieron la oportunidad! Ya somos dos profesionales en casa. Te amo, hermano, gracias por ser un pilar en mi vida.

A mi familia en Cristo que me sostuvo emocional y espiritualmente a través de sus oraciones, en especial a las familias Leal Villanueva y hermanas Gutiérrez, mis hermanos del club de niños, de alabanza y de coro, gracias por su amor, apoyo y sostén. A mi hermanita Gaby Guzmán en quién siempre tengo bendición y edificación, gracias por estar en el tiempo para reír y el tiempo para llorar, proseguimos hacia la meta juntas. A la familia Rangel Rojas por su apoyo el tiempo que compartimos, por la confianza que me brindaron al vivir en su casa y por todo su cariño, a todos deseo que Dios les bendiga y multiplique en sobremanera.

A mis tíos-padrinos, Ma. Elena Gutiérrez y Roberto Soto, gracias por recibirme en su casa y apoyarme en todo, además de ser mi familia son mi red de apoyo, los amo y les agradezco de corazón su generosidad. También a mi tía Rosy por ofrecerme nuevamente su casa como hogar, gracias por siempre considerarme como una hija más y por su amabilidad conmigo. Finalmente, agradezco a Omar Ponce, Laura Chang, Ahtziri Arreola, Citlalli Sáenz, Ivonne Padilla, Blanca Estela, Nenita, a mi psicóloga Karen Euyoque y a todos mis amigos -me faltan muchos por nombrar- que me ayudaron a salir adelante en mis momentos de bache emocional a lo largo de estos años, gracias a su apoyo logré avanzar y llegar hasta aquí, los quiero mucho.

## **DEDICATORIA.**

A Dios porque todo lo que soy y todo lo que tengo es por su gracia y para su gloria.

A mis sobrinos que son mi fuente de amor y ternura: Mateo, Elián y Victoria,

En memoria de mi biólogo favorito, Hilario Gutiérrez Alfaro †  
y de mis seres amados que ya están en la presencia del Señor (tío Rafa, abuelita Luz, Yuli y Viri) a quienes siempre llevo en mi corazón.

“Si Jehová no edificare la casa,  
En vano trabajan los que la edifican;  
Si Jehová no guardare la ciudad,  
En vano vela la guardia.” Salmos 127:1

## ÍNDICE

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. RESUMEN EN ESPAÑOL.....                                                         | 1  |
| 2. RESUMEN EN INGLÉS .....                                                         | 2  |
| 3. INTRODUCCIÓN.....                                                               | 3  |
| 4. OBJETIVOS.....                                                                  | 7  |
| 4.1 Objetivo general.....                                                          | 7  |
| 4.2 Objetivos específicos.....                                                     | 7  |
| 5. ANTECEDENTES .....                                                              | 8  |
| 5.1 Objeto de estudio.....                                                         | 8  |
| 5.1.1 Origen y distribución de la especie.....                                     | 8  |
| 5.1.2 Estado de conservación y manejo de la especie .....                          | 8  |
| 5.2 Historia natural y ecología .....                                              | 9  |
| 5.2.1 Sistema reproductivo, estructura social, y ámbito hogareño .....             | 9  |
| 5.2.2 Preferencias alimenticias y de hábitat .....                                 | 10 |
| 5.3 Estudios a nivel de paisaje .....                                              | 11 |
| 5.4 Antecedentes en la zona de estudio.....                                        | 12 |
| 6. METODOLOGÍA.....                                                                | 14 |
| 6.1 Descripción del sitio de estudio .....                                         | 14 |
| 6.1.1 Cobertura vegetal.....                                                       | 14 |
| 6.1.2 Clima .....                                                                  | 14 |
| 6.1.3 Fisiografía.....                                                             | 15 |
| 6.2 Fase de campo .....                                                            | 16 |
| 6.2.1 Diseño de muestreo .....                                                     | 16 |
| 6.3 Análisis espaciales y validación de modelos.....                               | 18 |
| 6.3.1 Índice de Idoneidad del hábitat.....                                         | 18 |
| 6.3.2 Modelo de Conectividad: Parches de hábitat y superficie de resistencia ..... | 19 |
| 6.3.3 Estimación del Área Mínima Viable. ....                                      | 20 |
| 6.3.4 Corredores biológicos.....                                                   | 21 |
| 6.3.5 Validación del IIH. ....                                                     | 21 |
| 6.4 Fase de laboratorio .....                                                      | 23 |
| 6.4.1 Extracción de ADN .....                                                      | 23 |
| 6.4.2 Amplificación de marcadores moleculares.....                                 | 23 |

|                                                                                                                                                |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 6.4.3 Procedimiento para secuenciación.....                                                                                                    | 24   |
| 6.5 Análisis genético-poblacionales.....                                                                                                       | 25   |
| 6.5.1 Proporción de machos y hembras.....                                                                                                      | 25   |
| 6.5.2 Diversidad genética .....                                                                                                                | 25   |
| 6.5.3 Diferenciación genética .....                                                                                                            | 26   |
| 7. RESULTADOS .....                                                                                                                            | 29   |
| 7.1 Análisis espaciales.....                                                                                                                   | 29   |
| 7.1.1 Índice de Idoneidad del Hábitat y validación con datos de presencia. ....                                                                | 29   |
| 7.1.2 Índice Integral de Conectividad: Priorización de parches y área mínima viable ....                                                       | 34   |
| 7.1.3 Corredores biológicos.....                                                                                                               | 35   |
| 7.2 Caracterización genético-poblacional. ....                                                                                                 | 35   |
| 7.2.1 Proporción de machos-hembras y tamaño efectivo poblacional. ....                                                                         | 35   |
| 7.2.2 Diversidad genética .....                                                                                                                | 36   |
| 7.2.3 Detección de bordes genéticos .....                                                                                                      | 37   |
| 7.2.4 Análisis de Varianza Molecular .....                                                                                                     | 37   |
| 8. DISCUSIÓN.....                                                                                                                              | 39   |
| 8.1 Caracterización poblacional de venado cola blanca: proporción de sexos, calidad del hábitat, conectividad y caracterización genética. .... | 40   |
| 8.2 Validación de los modelos .....                                                                                                            | 43   |
| 8.3 Concordancia con datos genéticos .....                                                                                                     | 43   |
| 9. CONCLUSIONES.....                                                                                                                           | 47   |
| 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                           | 49   |
| 11. ANEXOS.....                                                                                                                                | I    |
| Anexo 1. Antecedentes que reportan preferencias de hábitat en cérvidos y validación por medio de la ocurrencia o densidad poblacional. ....    | I    |
| Anexo 2. Antecedentes que reportan diversidad, diferenciación y/o estructura genética asociadas a atributos del paisaje en cérvidos. ....      | III  |
| Anexo 3. Localidades de colecta y número de muestras usadas para validación de modelos y para análisis genético-poblacionales. ....            | IV   |
| Anexo 4. Valores de ponderación del Índice de Idoneidad del Hábitat (Modelo de distribución potencial basado en la opinión de expertos). ....  | V    |
| Anexo 5. Condiciones de PCR para amplificar los marcadores Citocromo Oxidasa subunidad 1 y de determinación de sexo SRY, ZFX. ....             | VIII |
| Anexo 6. Metodología para purificación de producto de PCR por secuenciación tipo Sanger.....                                                   | IX   |

|                                                                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| Anexo 7. Distribución espacial de los variables del paisaje significativamente asociadas con la variación haplotípica según AMOVA. .... | X |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

|       |                                                                                                  |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RBSGG | Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato                                             |
| IIH   | Índice de Idoneidad del Hábitat                                                                  |
| IIC   | Índice Integral de Conectividad                                                                  |
| dIIC  | Valor delta del Índice Integral de Conectividad                                                  |
| ACM   | Área Crítica Mínima                                                                              |
| PMV   | Población Mínima Viable                                                                          |
| AMV   | Área Mínima Viable                                                                               |
| ACP   | Análisis de Componentes Principales                                                              |
| ADC   | Análisis Discriminante Cuadrático                                                                |
| COI   | Citocromo Oxidasa subunidad 1                                                                    |
| NCBI  | Por sus siglas en inglés, <i>National Center for Biotechnology Information</i>                   |
| ANP   | Área(s) Natural(es) Protegida(s)                                                                 |
| UMA   | Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre                                     |
| PCR   | Por sus siglas en inglés, <i>Polimerase Chain Reaction</i> (Reacción en Cadena de la Polimerasa) |

## **1. RESUMEN EN ESPAÑOL**

La ecología del paisaje, disciplina que estudia la conectividad del paisaje en conjunto con información demográfica y ecológica, proporciona herramientas valiosas para comprender la dinámica poblacional y la conservación de especies. Entre estas herramientas, la conectividad funcional, considera cómo las especies interactúan con el entorno y cómo diferentes barreras (naturales o antrópicas) afectan la capacidad de desplazarse, dispersarse y acceder a recursos críticos para su supervivencia y reproducción. Este concepto es crucial en ecología y genética del paisaje, ya que se relaciona con la dinámica de las poblaciones, el flujo génico y la resiliencia de las especies frente a la fragmentación del hábitat. Sin embargo, estos aspectos no han sido previamente evaluados para especies como el venado cola blanca, especialmente en áreas destinadas a la conservación en México. En este estudio, se desarrolló un modelo de distribución potencial del venado cola blanca basado en opinión de expertos (Índice de Idoneidad del Hábitat) para estimar la conectividad y modelar corredores biológicos dentro de la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato (RBSGG). Los modelos se validaron con registros de presencia de la especie, proporción de sexos, tamaño efectivo poblacional, valores de diversidad genética y diferenciación, y con el algoritmo de máximas distancias de Monmonier. Los resultados indican diferencias en la calidad y conectividad del hábitat, así como diferenciación genética significativa y la presencia de una barrera cerca del límite de la zona núcleo de la RBSGG que divide a la especie en dos grupos. Los grupos identificados podrían ser considerados Unidades de Manejo Genético representando subpoblaciones de ecorregiones distintas. El grupo ubicado al sur de la RBSGG se encuentra más expuesto a la erosión genética debido a sus bajos niveles de diversidad, la escasez de hábitat de alta calidad y la baja conectividad. Por lo tanto, se recomienda la implementación de medidas de conservación para preservar el acervo genético local. En contraste, el grupo del norte podría ser considerado en esquemas de manejo planificados.

### **Palabras clave:**

Conectividad genética, ecología del paisaje, distribución espacial, diversidad genética, conservación y manejo de la biodiversidad.

## **2. RESUMEN EN INGLÉS**

Landscape ecology, a discipline that examines landscape connectivity in conjunction with demographic and ecological information, offers valuable tools for understanding population dynamics and species conservation. Among these tools, functional connectivity focuses on how species interact with their environment and how various barriers, both natural and anthropogenic, influence their ability to move, disperse, and access critical resources necessary for their survival and reproduction. This concept is crucial in both landscape ecology and landscape genetics, as it is closely linked to population dynamics, gene flow, and species resilience in the face of habitat fragmentation. However, these aspects have not been previously evaluated for species such as the white-tailed deer, especially in conservation areas within Mexico. This study developed a potential distribution model of white-tailed deer based on expert opinion (Habitat Suitability Index) to estimate connectivity and model biological corridors within the Sierra Gorda de Guanajuato Biosphere Reserve (SGGBR). The models were validated with species presence records, sex ratio, effective population size, diversity values, genetic differentiation, and the Monmonier Maximum Distance Algorithm. The results indicate differences in habitat quality and connectivity, as well as significant genetic differentiation and the presence of a barrier near the core zone boundary of the SGGBR, which divides individuals into two groups. The identified groups could be considered Genetic Management Units, representing subpopulations of different ecoregions. The group located south of the SGGBR is more exposed to genetic erosion due to its low levels of diversity, shortage of high-quality habitat, and low connectivity. Therefore, implementing conservation measures is recommended to preserve the local genetic heritage. In contrast, the northern group could be considered in planned management schemes.

### **Key words:**

Genetic connectivity, landscape ecology, spatial distribution, genetic diversity, biodiversity conservation and management.

### 3. INTRODUCCIÓN

La ecología del paisaje, término acuñado por Carl Troll en 1939, es una disciplina que se enfoca en identificar las causas, consecuencias e importancia funcional de la heterogeneidad espacial; esta disciplina usa herramientas para cuantificar y entender la relación entre los patrones y procesos ecológicos (Turner & Gardner, 2015). La ecología del paisaje estudia la heterogeneidad espacial desde varios enfoques: el desarrollo y dinámica de la heterogeneidad, interacciones espaciales y temporales, la influencia de la heterogeneidad en los procesos bióticos y abióticos y la gestión de la heterogeneidad espacial (Risser et al., 1984). Estos aspectos se ejemplifican con estudios que abordan los componentes espacio-temporales de la conectividad en hábitats fragmentados (Auffret et al., 2015), la evaluación de la heterogeneidad del paisaje y su relación con los patrones de biodiversidad (Ribeiro et al., 2011), así como la gestión de la conectividad estructural y funcional para la implementación de planes de conservación (Zhou et al., 2023).

La relevancia de estudiar y evaluar la conectividad radica en que, a menudo, los métodos para describir y cuantificar los patrones espaciales revelan cuánto ha cambiado un paisaje a lo largo del tiempo, identifican los procesos ecológicos relacionados con el movimiento de los organismos, la redistribución de nutrientes y el impacto de disturbios naturales (Turner & Gardner, 2015). Entre los disturbios del paisaje más notables, destacan la fragmentación y el cambio de uso de suelo por sus repercusiones en la estructura y función de los ecosistemas, razón por la que se ha vuelto prioritario evaluar aspectos del manejo integrado del paisaje como el diseño y la planificación territorial para la conservación y gestión de la biodiversidad (Wu, 2013; Leija y Mendoza, 2021).

Con el fin de evaluar las repercusiones de la fragmentación en los ecosistemas, ha surgido el concepto de conectividad del paisaje, definido como “el grado en que se facilita o impide el intercambio de organismos, energía, material o información a través de los elementos del paisaje” (Wu, 2013). La conectividad puede abordarse a diferentes escalas que, en conjunto con la información demográfica y ecológica, recapitula conceptos de la ecología metapoblacional y la biología de la conservación (Drake et al., 2022). Al ser una propiedad del paisaje, también puede abordarse desde su componente estructural o funcional, que se define como:

1) Conectividad estructural: Se centra en las características físicas del paisaje y evalúa el grado en que un hábitat idóneo o un parche focal está conectado con otros parches. Esta evaluación se basa en la disposición física de los elementos del paisaje, su composición y la configuración de los parches, las conexiones entre los elementos y su proximidad espacial. Se asumen ciertas suposiciones sobre la dispersión de los organismos, sin considerar en detalle los procesos ecológicos específicos que podrían influir en su movimiento (Auffret et al., 2015; Crompton et al., 2023; Drake et al., 2022; Turner & Gardner, 2015).

2) Conectividad funcional: Se basa en el movimiento real de los organismos, su comportamiento y relación con los elementos del paisaje; permite comprender cómo se dispersan los organismos y sus genes, y la afectación de la fragmentación del hábitat en procesos ecológicos poblacionales como la presencia o la abundancia (Auffret et al., 2015; Drake et al., 2022; Turner & Gardner, 2015).

Adicionalmente, cuando la conectividad es evaluada con datos genéticos, permite explorar el efecto del paisaje sobre la distribución de los alelos entre poblaciones, los cambios en la diversidad genética, la correlación entre distancia genética y la distancia geográfica, de esta manera, analiza la influencia de la estructura de paisajes fragmentados sobre las dinámicas de procesos ecológicos como la sobrevivencia y el flujo génico (Burkart et al., 2016; Luque et al., 2012). Estos factores tienen gran relevancia en la toma de decisiones con fines de conservación y manejo, por ejemplo, el impacto que puede causar la translocación de individuos o la conservación de unidades de manejo genético presentes únicamente en poblaciones locales (Moritz, 1994).

En el estudio de la fragmentación del hábitat y su relación con la conservación de la biodiversidad, los estudios a nivel de paisaje con mamíferos como especies focales han demostrado ser herramientas valiosas (Correa-Ayram et al., 2014). Tales estudios han contribuido a la identificación de áreas o corredores importantes para mantener la conectividad (Salom-Pérez et al., 2007; Pérez Vega et al., 2016), la evaluación de la conectividad dentro de áreas protegidas (Castilho et al., 2015) e incluso para la detección de atributos del paisaje que contribuyen a eventos de depredación del ganado (Zanin et al., 2015), por mencionar algunos ejemplos.

Considerando que los movimientos de dispersión y selección de hábitat se ven afectados por características tanto naturales como antrópicas del paisaje (Portanier et al., 2018),

se han desarrollado herramientas para generar modelos espacialmente explícitos que integran atributos clave del hábitat y los mínimos indispensables para promover la supervivencia de una especie. Estos atributos incluyen aspectos biológicos, ecológicos, físicos y aquellos que representan una presión natural o artificial en la unidad de paisaje (Delfín-Alfonso et al., 2014). Estos modelos permiten identificar parches de hábitat prioritarios, describir la conectividad entre ellos, determinar el uso del hábitat y los corredores utilizados por una especie o la predicción de la presencia, densidad poblacional y estructura genética (Avey et al., 2003; Delfín-Alfonso et al., 2009; Locher et al., 2015).

En este sentido, la evaluación de la conectividad funcional es crucial en los estudios de conservación y manejo de especies prioritarias para la conservación o de importancia cinegética. Entre los procesos ecológicos que tienen un efecto en la distribución espacial y el flujo génico en mamíferos, varios estudios reportan la idoneidad del hábitat y la resistencia al paisaje como mejores predictores de la diversidad y estructura genética espacial que la distancia geográfica (Locher et al. 2015; Coulon et al., 2006; Fieberg et al., 2008; Fraser et al., 2019; Robinson et al., 2012). En lo respectivo al venado cola blanca (Cervidae, *Odocoileus virginianus*), las investigaciones sobre esta especie y sus congéneres han contribuido a comprender patrones ecológicos a diferentes escalas, incluyendo aspectos relacionados con la distribución, el uso del hábitat y la diferenciación geográfica de sus poblaciones. Por ejemplo, se han explorado las migraciones (Latch et al., 2009, 2014; Pease et al., 2009) y su asociación con la divergencia genética de subespecies geográficamente cercanas (Serna, 2016), así como la multifactorialidad de la estructura espacial de sus poblaciones vinculada a procesos demográficos históricos y ecológicos contemporáneos (De La Rosa-Reyna et al., 2012; Fraser et al., 2019).

Algunos autores han reportado asociaciones entre la heterogeneidad espacial, el flujo génico y la diferenciación genética a escala fina y amplia en poblaciones del venado cola blanca (De La Rosa-Reyna et al., 2012; Fraser et al. 2019), reportando la presencia de barreras como ríos y redes carreteras como atributos que afectan significativamente la diferenciación genética poblacional (Locher et al. 2015; Coulon et al., 2006; Fieberg et al., 2008; Fraser et al., 2019; Robinson et al., 2012). Sin embargo, desde el enfoque de paisaje y la genética de poblaciones, aún se carece de caracterizaciones genéticas y poblacionales de todas las ecorregiones del país, específicamente las asociadas a bosques secos tropicales y templados del Pacífico y Centro de México (Hernández-Llamas, 2014; Logan López et al., 2007; Mandujano, 2004; Mandujano et al. 2010; Serna Lagunes, 2016) así como su relación con la conectividad funcional.

Con base en la información expuesta, es necesario destacar que el estudio genético-poblacional del venado cola blanca en la RBSGG se sustenta en varios antecedentes clave. Primero, Mandujano et al. (2010) sugieren que la RBSGG está en el límite de dos ecorregiones, lo que podría implicar la coexistencia de subpoblaciones con diferentes asociaciones ecológicas. Segundo, Tafolla (2016) reportó variaciones en la abundancia del venado vinculadas a tipos de vegetación y altitudes, lo que resalta la posible influencia de la heterogeneidad del paisaje en su distribución. En adición, la falta de conectividad observada en otra especie (*Puma concolor*, Pérez-Vega et al., 2020) sugiere afectaciones en el hábitat que podrían impactar a otros mamíferos de alta movilidad, lo que hace urgente un estudio genético para evaluar las consecuencias y la viabilidad a largo plazo del venado cola blanca. La suma de estos factores subraya la necesidad de un análisis que guíe estrategias de conservación en la RBSGG.

Dado que, aún no se ha explorado el efecto de la heterogeneidad del paisaje sobre la ocurrencia y diversidad genética del venado cola blanca, este estudio busca evaluar la conectividad funcional de la población de *Odocoileus virginianus* en la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda de Guanajuato (RBSGG). A partir de un enfoque en ecología y genética del paisaje, se generará un modelo de distribución y conectividad, validado con datos de ocurrencia y diversidad genética. Se espera que la calidad del hábitat, representada por el Índice de Idoneidad del Hábitat (IIH), muestre una asociación con la ocurrencia y diversidad genética, previendo mayor diversidad genética en áreas de alta idoneidad y conectividad, y menor diversidad en sitios de baja calidad. Este trabajo pretende contribuir al conocimiento genético-poblacional y ecológico del venado en la reserva, para fomentar estrategias de conservación y manejo.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Determinar el impacto de la heterogeneidad del hábitat de la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato en la conectividad funcional del venado cola blanca a través de análisis espaciales y genéticos.

### **4.2 Objetivos específicos**

Estimar un Índice de Idoneidad del Hábitat que permita modelar la distribución potencial del venado cola blanca a escala espacial local en la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato.

Describir cómo las condiciones del hábitat y la conectividad del paisaje influyen en la distribución y flujo génico mediante la evaluación de modelos espacialmente explícitos de idoneidad del hábitat (IIH), conectividad (IIC) y corredores biológicos en relación con la ocurrencia de la especie y diversidad genética.

Estimar el grado de conservación de la especie a través de la evaluación de la proporción de sexos, tamaño efectivo poblacional y niveles de diversidad genética de la población de venado cola blanca de la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato.

Evaluar si existe correspondencia entre los patrones de diversidad y estructura genética con los parches de hábitat identificados como de alta calidad y con aquellos que facilitan la conectividad del paisaje (corredores biológicos).

## 5. ANTECEDENTES

### 5.1 Objeto de estudio

#### 5.1.1 Origen y distribución de la especie

El venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) es un artiodáctilo perteneciente a la familia Cervidae; en México esta familia está representada por tres géneros: *Cervus*, *Odocoileus* y *Mazama*. Se considera que la especie tiene su origen en Centroamérica y alcanzó grandes latitudes en tiempos relativamente recientes (entre el Pleistoceno temprano al medio); su distribución histórica incluye un rango casi tan amplio como el actual (Smith, 1991) y en el continente comprende desde América del norte al sureste de Canadá, la mayor parte de Estados Unidos y México, Centroamérica y en Suramérica hasta la región noreste de Bolivia, el norte de Brasil y el sur del Perú (Gallina et al., 2010; Merino & Vieira, 2010; Smith, 1991).

Se considera que la distribución del venado cola blanca se encuentra asociada a procesos de dispersión entre la fauna de Beringia y la Neotropical, ciclos interestadiales-estadiales ocurridos durante el Plioceno y el Cuaternario, así como a patrones de aislamiento y formación de refugios intermitentes a diferentes escalas espacio-temporales (Morand & Krasnov, 2010). Estos eventos han moldeado la diferenciación y estructura genética de sus poblaciones en una escala temporal amplia (Latch et al., 2009, 2014; Pease et al., 2009). Por otro lado, la divergencia genética contemporánea puede relacionarse con cambios demográficos asociados a factores ecológicos como la explotación forestal, el cambio de uso de suelo y la cacería excesiva. Un ejemplo de lo anterior son los cambios en las poblaciones en Norteamérica, que tras la segunda guerra mundial se recuperaron posiblemente por la restauración de bosques, regulación legal de la cacería y reintroducciones exitosas (Smith, 1991).

#### 5.1.2 Estado de conservación y manejo de la especie

El venado cola blanca es ampliamente reconocido como una especie de importancia económica y cinegética (Ceballos, 2005; Gallina et al., 2014). La especie se encuentra en estado de Preocupación Menor en la lista roja de la IUCN (IUCN, 2016) y en el país en la lista de especies y poblaciones prioritarias para la Conservación del Diario Oficial de la Federación (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2014). En Guanajuato, se considera especie focal

de alta prioridad (Sánchez, 2014) y sus principales amenazas son la cacería excesiva y la explotación forestal (Gallina et al., 2010; Gallina & López, 2016).

## 5.2 Historia natural y ecología

### 5.2.1 Sistema reproductivo, estructura social, y ámbito hogareño

El venado cola blanca tiene una época reproductiva que inicia en enero y tiene duración de tres meses, las hembras pueden aparearse desde los 1.5 años, con partos de una cría en madres primerizas; los siguientes partos pueden ser de dos o hasta tres crías dependiendo de las características del hábitat. Su sistema reproductivo es poligínico, conformando estructuras sociales en grupos formados por la hembra y sus crías o machos en grupos mixtos de edad durante la época no reproductiva pero solitarios en época reproductiva; el tamaño de los grupos está influenciado por la estructura del hábitat, con grupos pequeños en hábitats cerrados y grupos grandes en hábitats abiertos (Ceballos, 2005).

Diversos autores indican que las actividades y ámbito hogareño de la especie están asociados a características de los organismos como la edad, sexo, época reproductiva, densidad e interacciones sociales y características del hábitat como la disponibilidad de alimento, latitud, estacionalidad, cobertura vegetal, diversidad del hábitat, actividad de sus depredadores o actividades humanas (Ceballos, 2005; Smith, 1991). No obstante, su ámbito hogareño está bien definido, sin llegar a ser territorial. El tamaño del ámbito hogareño según Gallina et al. (2010) es inversamente proporcional a la densidad y la cobertura vegetal. Otros autores, como Smith (1991) reportan un ámbito hogareño de 2.89 km<sup>2</sup>, mientras que Ceballos (2005) reporta 5.18 y 10.5 km<sup>2</sup> para hembras y machos, respectivamente.

Por otro lado, algunos autores sugieren que hay comportamientos asociados entre la segregación sexual y los atributos del paisaje ya que las barreras físicas o características del hábitat afectan de manera diferencial los movimientos de dispersión de los machos y las hembras. Se ha detectado que las distancias que los machos recorren durante la temporada reproductiva suelen ser mayores, mientras que las hembras evaden los lugares o hábitats que perciben como inseguros y prefieren aquellos con mucha visibilidad y baja accesibilidad para los depredadores. Aunque varía entre temporadas, estas diferencias de comportamiento hacen que las hembras sean mayormente afectadas por elementos del paisaje (Portanier et al., 2018).

### 5.2.2 Preferencias alimenticias y de hábitat

Los individuos de la especie se consideran como buscadores selectivos en sus hábitos, ya que pueden elegir y discriminar plantas o partes de ellas. Su dieta puede incluir matorrales, árboles, juncos, nueces, hierbas, hongos y pastos (Gallina et al., 2010). También pueden exhibir un uso del hábitat en función del forrajeo y sexo, -según lo reportado en bosque tropical seco, en Gallina et al. (2010)-, donde las hembras se asocian con mayor densidad de cobertura vegetal y los machos con hábitats abiertos; aunque la especie es muy versátil y puede habitar en áreas de explotación agrícola y sitios con actividad industrial, su abundancia tiende a incrementar en sitios muy productivos y sin depredadores (Gallina et al., 2010; Merino & Vieira, 2010; Ceballos, 2005).

La abundancia del venado cola blanca en regiones Neotropicales es muy variable, desde 1 hasta 80 individuos/km<sup>2</sup> (Gallina et al., 2010) siendo menos de 15 individuos/km<sup>2</sup> el valor más común (Ceballos, 2005). En los hábitats que ocupa *O. virginianus* en México, sus mayores densidades se han reportado en hábitats de bosque mixto de pino-encino dentro de Áreas Naturales Protegidas (18 individuos/km<sup>2</sup>), ambientes semi-áridos (10-20 individuos/km<sup>2</sup>) y en el bosque tropical seco (10-20 individuos/km<sup>2</sup>). Las menores densidades se han observado en los bosques tropicales (<1 individuo/km<sup>2</sup>) donde son más abundantes los venados del género *Mazama* (Gallina et al., 2010).

Por su parte, las preferencias de hábitat de la especie están asociadas a atributos del paisaje como la topografía (Gallina et al., 2010; Delfín-Alfonso et al., 2009; Yañez-Arenas et al., 2012; Avey et al., 2003; Medina-Torres et al., 2008), variables antrópicas como carreteras, distancia a asentamientos humanos de alta densidad poblacional (Locher et al., 2015; Ramos-Robles et al., 2013) y uno de los más importantes, el tipo de vegetación (Medina-Torres et al., 2008; Yañez-Arenas et al., 2012). En consecuencia, la vegetación ha sido propuesta en la determinación de ecorregiones útiles para representar unidades de conservación para el venado cola blanca a distintas escalas espaciales (Mandujano et al., 2010, 2014), bajo el entendido que las ecorregiones son definidas como “áreas de ensambles de comunidades naturales con condiciones ambientales particulares” (Mandujano et al., 2010).

Las ecorregiones propuestas para el venado cola blanca se basan en la agrupación de subespecies por su asociación con tipos de vegetación, asumiendo que hay grupos de poblaciones locales que comparten un rango geográfico con dinámicas y condiciones

ambientales propias y que se encuentran separadas de otras poblaciones por barreras climáticas o geográficas (Mandujano et al. 2010). De acuerdo con esta clasificación, las tres ecorregiones son: 1) las del norte asociadas a matorrales; 2) las del pacífico de bosque templado y bosque tropical seco, y 3) las del sudeste con el bosque tropical perenne y bosque tropical subcaducifolio. Aún con lo controversial del término subespecie, los autores mencionan la imposibilidad de probar la validez taxonómica del término y destacan la utilidad de la agrupación por ecorregiones para su evaluación con datos genéticos como unidades de manejo ecológico a esta escala (Mandujano et al. 2010).

### 5.3 Estudios a nivel de paisaje

Algunos estudios con venado cola blanca han aplicado modelos espacialmente explícitos, como el Modelado de Nicho Ecológico (MNE) (Yañez-Arenas et al., 2012) o los Índices de Idoneidad del Hábitat (IIH), para evaluar la conectividad entre Áreas Naturales Protegidas y el diseño de corredores biológicos (Ávila-Coria et al., 2019; Villavicencio et al., 2017). Ambos modelos evalúan la calidad del hábitat con los atributos mínimos indispensables para su ocurrencia, entre ellas variables bióticas y abióticas que prefiere la especie y que contribuyen a su sobrevivencia en un paisaje determinado. También se incluyen "fuentes de presión" que afectan la calidad del hábitat como la presencia de carreteras o altas densidades humanas (Gallina et al., 2014). La diferencia entre el MNE y el IIH radica en que, para calcular los IIH, no se requieren registros de la especie, ya que este se basa en un modelo conceptual construido a partir de la opinión de expertos, utilizando literatura y, cuando es posible, datos obtenidos en campo. (Cole & Smith 1983). La experiencia del evaluador y su conocimiento sobre biología y ecología de la especie son cruciales, ya que el evaluador asigna los valores de ponderación que se emplean para generar el modelo espacialmente explícito en un sistema de información geográfica (Cole & Smith, 1983; Gallina et al., 2014).

Por otro lado, la evaluación de la calidad del hábitat en modelos espacialmente explícitos, han incluido la validación con datos de campo por medio de la presencia-ausencia de huellas y rastros, la detección por fototrampeo y otros por medio de la evaluación de parámetros de densidad poblacional como la abundancia relativa (Ávila-Coria et al., 2019; Delfín-Alfonso et al., 2009, 2014; Yañez-Arenas et al., 2012). Diversos estudios han utilizado la variabilidad genética como variable de respuesta a la heterogeneidad del paisaje (Coulon et al., 2006; Blanchong et al., 2008; Fraser et al., 2019; Locher et al., 2015; Long et al., 2005, 2010; Robinson et al., 2012a). Adicionalmente, diversos autores han identificado áreas con

presencia de barreras de carácter antropogénico donde hay cambios significativos en las frecuencias alélicas (Kuehn et al., 2007), o se han usado los modelos para la búsqueda de divergencias entre poblaciones y generar propuestas de conservación o manejo (Barbosa et al., 2022).

En su conjunto, estos antecedentes reflejan atributos del paisaje que son clave para el venado cola blanca, entre ellos: 1) las características naturales del paisaje como el tipo de vegetación, densidad o cobertura vegetal, la altitud, la pendiente, la orientación de laderas, la presencia de ríos o lagos y la distancia a cuerpos de agua; 2) características antrópicas del paisaje como la distancia a carreteras, caminos y ciudades con mayor número de habitantes. En el Anexo 1 se presenta información detallada de lo reportado en estos estudios y, en su caso, la comprobación del modelo por medio de la presencia o abundancia de la especie. Así mismo, el Anexo 2 ilustra los estudios que reportaron la diversidad y estructura genética de la especie asociadas a la heterogeneidad del paisaje.

#### 5.4 Antecedentes en la zona de estudio

Mandujano et al. (2010) propusieron una clasificación del venado cola blanca en distintas ecorregiones, basada en la morfometría de las subespecies y su relación con los tipos de vegetación. Según esta clasificación, la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato (RBSGG) se encontraría en el límite entre dos ecorregiones: la del Noreste de México, dominada por matorrales xerófilos, y la del Pacífico-Centro, con bosques templados y tropicales secos. Debido a la pequeña escala espacial de la RBSGG y la falta de muestras de Guanajuato en el estudio de Mandujano et al. no se ha definido con claridad el límite entre ambas ecorregiones dentro del área protegida. Por su parte, utilizando tasas de captura Tafolla (2016) observó diferencias en la abundancia del venado en la RBSGG, con mayor abundancia en el norte, donde predominan los matorrales, y menor en el centro-sur, caracterizado por bosques templados. Ambos estudios sugieren que la RBSGG podría ser el límite entre estas dos ecorregiones, lo que subraya la importancia de este sitio como una zona de transición ecológica clave.

Otros aspectos ecológicos relacionados con la heterogeneidad del paisaje, la abundancia y la conectividad en la RBSGG han sido abordados en dos estudios previos. Primero, Tafolla (2016) documentó variaciones en la tasa de captura del venado cola blanca, observando mayores registros entre los 1200 y 1400 msnm, lo que sugiere que las abundancias pueden estar

vinculadas al tipo de vegetación y otras características del paisaje. Por otro lado, la conectividad del paisaje evaluada con el Índice Integral de Conectividad (IIC), mostró zonas de baja conectividad y corredores truncados en una zona del centro de la reserva, explicando estos hallazgos por el grado de intervención humana y la degradación del hábitat actividad minera que afectan el hábitat del *Puma concolor* (Pérez-Vega et al. 2016). Por tanto, dado el uso del hábitat y las interacciones bióticas que comparten mamíferos de alta movilidad, se podría inferir que esta degradación también impacta al venado cola blanca.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Descripción del sitio de estudio

La Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Guanajuato (en adelante RBSGG), es la zona con mayor grado de conservación de diversidad biológica en el estado y con el mayor número de registros de venado cola blanca en Guanajuato (Sánchez et al., 2016). Por su ubicación, la RBSGG es un lugar heterogéneo en fisiografía, vegetación, clima y otros aspectos que, de acuerdo con los requerimientos ecológicos para el venado (Reportadas en Anexo 1 y 2) son características que podrían constituir ambientes contrastantes a escala fina. En la Figura 1 se representa la distribución espacial de algunos de los atributos del paisaje más relevantes por su heterogeneidad, mismos que se describen a continuación.

#### 6.1.1 Cobertura vegetal

De acuerdo con la carta de Uso de Suelo y Vegetación del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2017a), algunos tipos de vegetación que se encuentran en fragmentos en la parte central de la Reserva son: bosque de encino, encino-pino, pino, pino-encino y vegetación secundaria arbustiva de matorral crasicaule. Sin embargo, algunos tipos de vegetación son exclusivos para los extremos noreste y suroeste de la RBSGG:

1. Lado norte-este. El matorral submontano forma un continuo en la parte noreste en sus límites con San Luís Potosí y fragmentos hacia el este de la RBSGG. La selva baja caducifolia se encuentra en el extremo del noreste en sus límites con San Luis Potosí. Hay algunos fragmentos de vegetación secundaria de pino-encino en fragmentos dispersos y de vegetación secundaria de selva baja caducifolia hacia la parte este.
2. Lado sur-oeste. Matorral crasicaule que comienza con una franja en la parte central de la RBSGG y se extiende al oeste. En esta zona el pastizal inducido se ubica en fragmentos pequeños y el pastizal natural en fragmentos de la zona de influencia.

#### 6.1.2 Clima

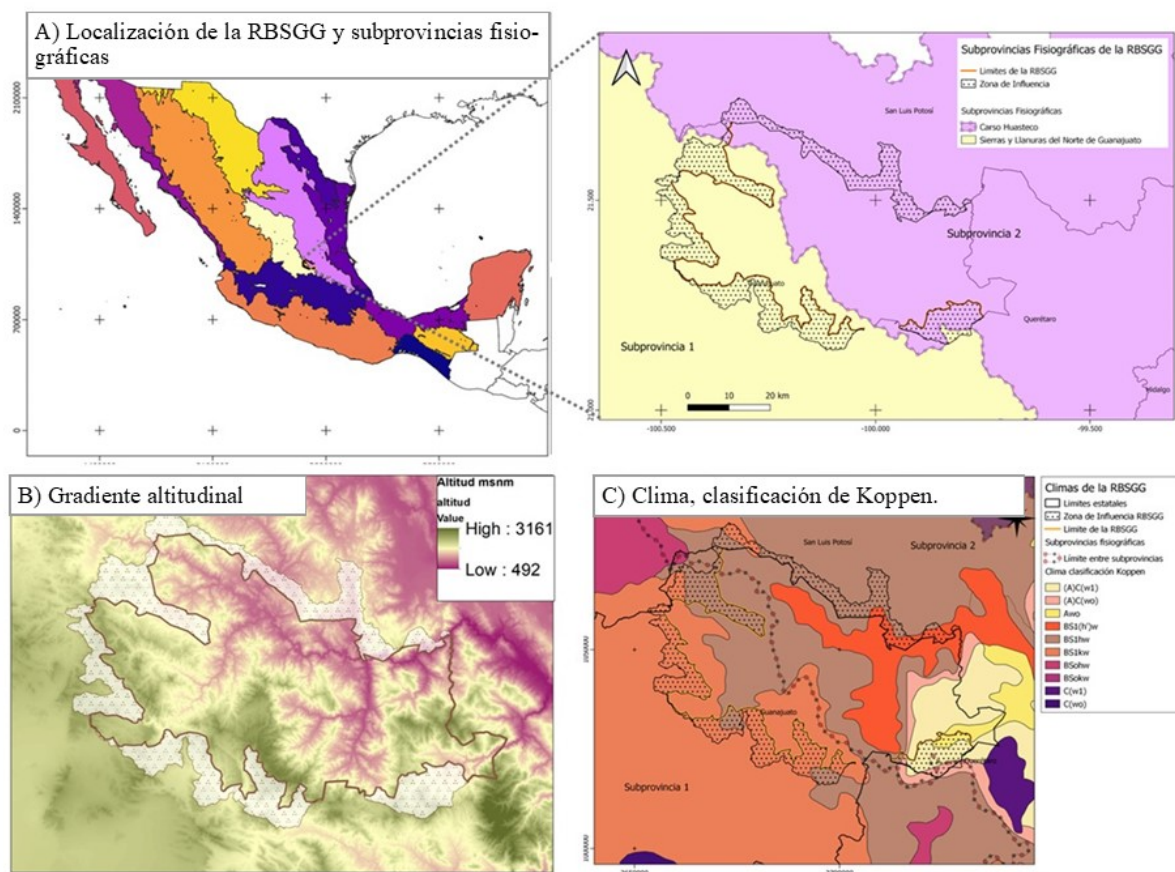
En la RBSGG predomina el clima seco estepario -perteneciente al grupo de climas secos- con sus variantes, caracterizado por oscilaciones térmicas muy sensibles que alcanzan un régimen templado medio asociado con herbáceas y plantas xerófitas. En la parte noreste de la RBSGG,

se ubica el clima tropical lluvioso con lluvias en verano -perteneciente al grupo de climas cálidos-, con régimen térmico caluroso regular asociado a la vegetación herbácea de sabana, en contraste con la zona oriental de la RBSGG donde se presentan los climas semicálidos subhúmedos del grupo C pertenecientes a climas templados (Mariaca-Rodríguez et al., 1999). La distribución espacial de los climas en la RBSGG se puede observar en la Figura 1.

### 6.1.3 Fisiografía

El modelo digital de elevación para la RBSGG (Fick & Hijimans, 2017) indica que la variación de altitud dentro del polígono va desde los 761 hasta los 1500 msnm, las zonas bajas se encuentran mayormente en la parte norte y noreste de la RBSGG, mientras que, las zonas de mayor altitud, entre 1501 a 2670 msnm se distribuyen hacia la parte sur y oeste. Estas diferencias altitudinales se deben a la confluencia de dos subprovincias fisiográficas, que según clasificación de Hernández et al., (2017) son:

- 1) Subprovincia de las Sierras y Llanuras del Norte de Guanajuato, caracterizada por morfoestructuras de origen volcánico, se ubica hacia el suroeste de la reserva. (Hernández et al., 2017). Esta subprovincia es la región más sureña de la Provincia de la Mesa del Centro que se caracteriza por climas semisecos y templados, su vegetación es característica de zonas áridas y semiáridas e incrementa la humedad de norte a sur justo donde confluye hacia la RBSGG (Zamudio, 2012).
- 2) Subprovincia del Carso Huasteco, se caracteriza por morfoestructuras plegadas con fuerte disección erosivo-kárstica (Hernández et al., 2017) y se ubica hacia el noreste de la RBSGG. Pertenece a la Provincia de la Sierra Madre Oriental que cuenta con clima seco y cálido en la parte norte del país, semicálido hacia el sur en las partes de mayor altitud y con más humedad donde predomina el bosque mesófilo de montaña o el bosque tropical caducifolio y, hacia zonas más bajas como la zona de coincidencia con la RBSGG, los matorrales xerófilos submontanos y crasicaules (Zamudio, 2012).



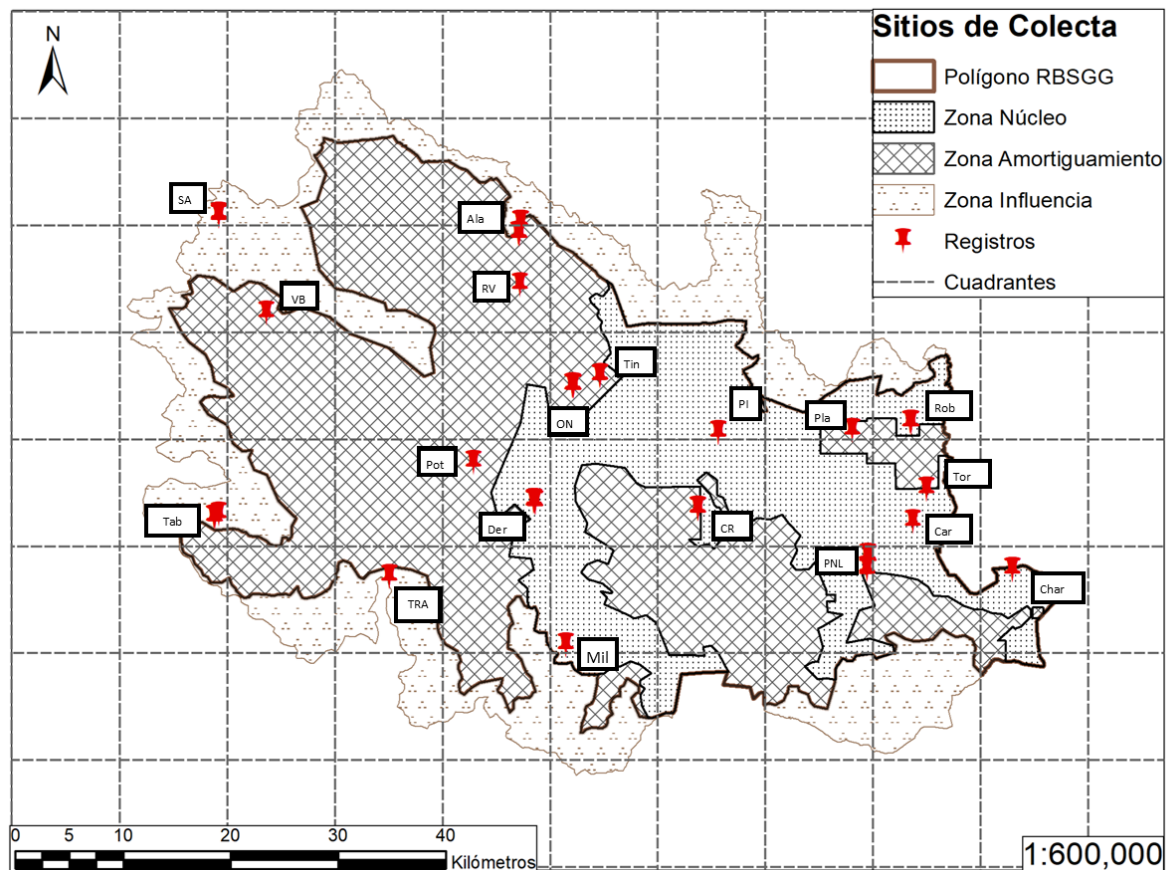
**Figura 1.** Localización de la RBSGG y subprovincias fisiográficas, heterogeneidad espacial de B) altitud y C) clima.

## 6.2 Fase de campo

### 6.2.1 Diseño de muestreo

Se implementó un muestreo sistemático para evitar muestras agregadas o irregulares (Schwartz & McKelvey, 2009). Las colectas se hicieron durante los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2021. Se eligieron 19 localidades de muestreo (Figura 2 y Anexo 3) en función de un diseño de cuadrantes de 10 kilómetros de ancho tomando como referencia el ámbito hogareño reportado para los machos de la especie (Ceballos, 2005). Lo anterior se hizo con el fin de minimizar la probabilidad de recolectar individuos repetidos o emparentados. Siempre que la accesibilidad al terreno lo permitió, se seleccionaron cuadrantes no adyacentes para la colecta. La búsqueda de muestras fecales se llevó a cabo dentro de los cuadrantes seleccionados basándose en la identificación de huellas y rastros utilizando la guía de Aranda (2012) y con el apoyo en la identificación del Dr. Juan Felipe Charre Medellín.

Para la búsqueda de muestras se consideró la calidad del hábitat como indicador de la presencia potencial de la especie (evaluado mediante el Índice de Idoneidad del Hábitat, que se describe en el siguiente apartado) y los avistamientos previos de venado cola blanca reportados por los guías de campo. Se encontraron rastros de venado cola blanca en 19 localidades del polígono de la RBSGG (incluida el área de influencia) y se colectaron en total 140 muestras georreferenciadas que se muestran en la Figura 2.



**Figura 2.** Puntos de colecta y localidades de muestreo en la RBSGG. Se muestran los cuadrantes de 10 km de ancho (línea punteada), los puntos de colecta en símbolos rojos y las 19 localidades donde se colectaron excretas de la especie. Las etiquetas de las localidades son: SA – San Antón de los Martínez, Ala – Álamos de Martínez, VB – El Vergel de Bernalejo, RV – Rancho Viejo, Tin – Las Tinajas, ON – Rancho La Onza, PI – La Pila, Pla – El Platanal, Rob – El Roblar, Tor – El Toro, Car – El Carricillo, Char – El Charco, Pot – Potrerillos, Der – Derramaderos, CR – Cristo Rey, Mil – El Milagro, PNL – El Piñonal, Tab – Tabaco, TRA – Las Trancas.

### 6.3 Análisis espaciales y validación de modelos.

#### 6.3.1 Índice de Idoneidad del hábitat.

Se generó un Índice de Idoneidad del Hábitat (En adelante IIH) por medio de un modelo espacialmente explícito de distribución potencial basado en la opinión de expertos (Cole & Smith 1983). A partir de la revisión de la literatura, se identificaron estudios que reportan patrones de preferencia y uso del hábitat de cérvidos en Norteamérica (Ver Anexo 1). Además de los atributos mínimos indispensables para la presencia de la especie, se usaron variables antropogénicas que influyen en la selección del hábitat en Artiodáctilos, limitan la dispersión de individuos o representan barreras al movimiento y que han sido utilizadas como un “valor de presión” en otros modelos con venado cola blanca (Feng et al. 2021; Delfin-Alfonso et al., 2009, 2014). Los atributos que se utilizaron para construir el modelo, su valor de ponderación y fuentes de datos se indican en la Tabla 1.

Los datos espaciales fueron procesados en ArcMap versión 10.4.1 (ArcGIS ©Esri), convertidos a formato ráster con resolución de una hectárea y transformados en una escala de valores entre 0 y 1. El tratamiento de las capas de distancia se generó con la herramienta “Distancia Euclidiana” y la densidad humana con la herramienta análisis de Kernel que usa la ecuación propuesta por Silverman (1986). El IIH se generó con la herramienta “Superposición ponderada” con los datos espaciales que se indican en la Tabla 1 y mediante la asignación de los valores de ponderación que se describen a detalle en el Anexo 4. Como resultado se obtuvo el IIH a través de un mapa de superposición, que indica la calidad de hábitat en una escala del 1 al 100, donde 1 corresponde a la calidad más baja y 100 la más alta.

**Tabla 1.** Atributos del hábitat utilizados para calcular el Índice de Idoneidad del hábitat para el venado cola blanca

| Variable                  | Fuente                                                                                                                                            |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cobertura vegetal         | Conjunto de datos vectoriales de la carta de Uso del suelo y vegetación, Serie VI. (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2017a) |
| Pendiente                 | Continuo de elevaciones mexicano 3.0 (CEM) (INEGI, 2017).                                                                                         |
| Distancia a ríos perennes | Continuo Nacional de las 5 Capas Actualizadas de Información Topográfica, Serie III, INEGI 2013-2018 (INEGI, 2021)                                |
| Distancia a localidades   | Continuo Nacional de las 5 Capas Actualizadas de Información Topográfica, Serie III, INEGI 2013-2018 (INEGI, 2021)                                |
| Densidad humana           | Censo de población y vivienda, INEGI 2020 (INEGI, 2021b)                                                                                          |

|                                     |                                                                                                                    |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Distancia a carreteras pavimentadas | Continuo Nacional de las 5 Capas Actualizadas de Información Topográfica, Serie III, INEGI 2013-2018 (INEGI, 2021) |
| Distancia a caminos de terracería   | Continuo Nacional de las 5 Capas Actualizadas de Información Topográfica, Serie III, INEGI 2013-2018 (INEGI, 2021) |

### 6.3.2 Modelo de Conectividad: Parches de hábitat y superficie de resistencia

A partir del Índice de Idoneidad del Hábitat (IIH) se identificaron 1) los parches de hábitat a conectar, y 2) la superficie de resistencia. Ambas variables son necesarias para generar un modelo de conectividad y de corredores.

#### 1) Parches de hábitat a conectar (nodos)

Se definieron extrayendo los píxeles con valores de los dos cuartiles más adecuados del IIH, se transformó a capa vectorial y se calculó el Índice Integral de Conectividad (IIC) para los parches; esta métrica considera la capacidad de dispersión de la especie focal, el tamaño del parche, la cantidad de flujo del parche y la posición topológica que ocupa dentro de la red. El IIC se generó con la paquetería Makurhini (Godínez-Gómez & Correa-Ayram, 2020) en el ambiente R versión 4.2.3 (R Core Team, 2023), utilizando una distancia entre centroides de los parches de diez kilómetros de acuerdo con la capacidad máxima de dispersión de los machos (Ceballos, 2005).

#### 2) Superficie de resistencia.

La superficie de resistencia se generó usando una transformación exponencial negativa del IIH siguiendo la metodología de Keeley et al. (2016); esta transformación considera que la relación entre la calidad del hábitat y la resistencia no es lineal inversa, debido a que los animales pueden moverse a través de áreas moderadamente adecuadas a muy adecuadas, tal como se ha reportado en mamíferos de alta movilidad (Keeley et al. 2016). Con este método, primero se transforma la escala de la capa de calidad (IIH, en formato ráster) para que los valores estén en un rango de 0 a 1 usando la fórmula:

$$f(x) = \frac{x - \min}{\max - \min}$$

donde,

$x$  representa el valor de idoneidad de cada píxel,  $\min$  y  $\max$  representan el valor mínimo y el máximo de los píxeles correspondientes al ráster del IIH.

Al ráster resultante, se le aplicó la siguiente ecuación (Trainor et al. 2013; Keeley et al. 2016) para transformar la capa de calidad a una superficie de resistencia:

$$f = 100 - 99 \left( \frac{1 - \exp^{-ch}}{1 - \exp^{-c}} \right)$$

donde:

$c$ , es el coeficiente de transformación y  $h$  es el valor de idoneidad de cada píxel.

Puesto que Keeley et al. (2016) reportan una tendencia al mejor rendimiento en coeficientes moderados, se eligió un valor de 4 para el coeficiente de transformación.

### 6.3.3 Estimación del Área Mínima Viable.

A partir de la capa de parches obtenida con el IIC se estimó la superficie para identificar el Área Crítica Mínima (ACM), es decir, los parches de hábitat que cumplen con las condiciones de superficie para albergar una Población Mínima Viable (PMV) de venado cola blanca. Este concepto es aplicado en la biología de la conservación y se refiere al tamaño más pequeño posible de hábitat que requiere una población biológica para existir en el tiempo con un menor riesgo de extinción por procesos demográficos, ambientales o estocasticidad genética; basado en la premisa que sostiene Traill et al. (2007) de que se requiere un área de hábitat suficiente para soportar poblaciones a largo plazo de 40 generaciones o alrededor de 100 años (Mandujano & González-Zamora, 2009; Traill et al., 2007).

La estimación del ACM se hizo a través de la capa vectorial de los parches que representan los sitios más adecuados en Idoneidad del Hábitat y los nodos de mayor conectividad obtenidos con el IIC, considerando dos criterios: 1) valores de calidad más altos, usando los dos cuartiles más adecuados del modelo IIH; y 2) categoría más alta del valor delta IIC (dIIC) que representa la conectividad funcional entre parches. Se midió la superficie en hectáreas de cada nodo con la herramienta *Calculate Geometry* de Arcmap y se clasificaron los parches que cumplen con la condición de superficie (Área Mínima Viable) de acuerdo con la relación estimada por Mandujano & González-Zamora (2009): Parches de 1,667 a 50,000 ha pueden sostener una PMV de 500 venados y parches en intervalo de 16,670 a 500,000 ha pueden sostener poblaciones a largo plazo de hasta 5,000 venados.

#### 6.3.4 Corredores biológicos

Se generó un modelo de corredores biológicos entre los parches elegidos con el IIC usando la herramienta Linkage mapper versión 3.0 (McRae & Kavanagh, 2011) en su versión para ArcMap. Linkage Mapper es una herramienta que integra la teoría de circuitos y los caminos de menor costo; trabaja creando una red de adyacencias entre áreas núcleo (parches a conectar) y la distancia de desplazamiento de la especie focal, calcula las distancias de costo ponderado y caminos de menor costo para cada enlace (corredor), para finalmente combinar los caminos de menor costo en un mapa (Feng et al., 2021). Este software se ha sugerido como una herramienta apropiada para el diseño de corredores en escalas pequeñas (Nordén, 2016) como es el caso de la RBSGG.

De la capa vectorial de parches seleccionados con el IIC, se modelaron los corredores con la herramienta *Build Network and Map Linkages* (McRae & Kavanagh, 2011). Los ajustes para el modelo se asignaron considerando la capacidad de desplazamiento del venado cola blanca, con valor de 10 kilómetros como la distancia máxima de dispersión del macho (Ceballos, 2005) en distancia euclidiana, 20 km en distancia costo y 20 km en los círculos buffer; para construir la red entre áreas núcleo se usó el método de adyacencia de costo-ponderado y euclidiano (Adriaensen et al., 2003; McRae et al., 2008). Se mantuvieron los corredores que interceptan áreas núcleo, el número máximo de vecinos de 4 con costo-ponderado como la medida al vecino más cercano, se activó la opción de conexión de constelaciones y se eligió una distancia para truncar los corredores también de 10 km (Beier et al., 2008; McRae & Kavanagh, 2011).

#### 6.3.5 Validación del IIH.

Para validar el IIH se evaluó la capacidad del modelo para predecir la relación entre la calidad del hábitat y la presencia de la especie. Este proceso se llevó a cabo utilizando datos empíricos recopilados en campo, empleando los registros de la especie como indicadores de su presencia y distribución. Inicialmente, se eliminaron los registros duplicados y se extrajeron los valores de las variables del paisaje (Tabla 1) y de la capa del IIH asociados a cada punto de ocurrencia. Posteriormente, se realizó una prueba de normalidad al conjunto de datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilks y, al no mostrar una distribución normal, se optó por realizar pruebas no paramétricas. A continuación, se describen en detalle los análisis univariados y multivariados llevados a cabo:

1) Análisis univariado: *Wilcoxon test*. Se aplicó para probar si los valores de calidad del IIH son diferentes que valores al azar para explicar la distribución de la especie; se generó una capa de valores aleatorios de la misma extensión y resolución, y con la misma escala de valores que el IIH (1 a 100). Se extrajeron los valores con los registros de ocurrencia usando la herramienta *extract values* en Arcmap del ráster del IIH y del ráster con valores aleatorios. Los valores obtenidos fueron comparados con la prueba pareada de Wilcoxon que asume que las muestras no son independientes.

2) Métodos estadísticos multivariados: Se usó un conjunto de datos obtenido a partir de puntos de ocurrencia de la especie, en el que se extrajeron los valores asociados a cada registro con las variables usadas en el IIH (ver variables en Tabla 1), a excepción de la vegetación por ser la única variable categórica. Los análisis se hicieron en el ambiente R versión 4.2.3 (R Core Team, 2023), una vez eliminados los duplicados se usaron 81 registros a los que se les aplicó la prueba de normalidad de Shapiro con *stats* versión 4.2.3 (R Core Team, 2023). Para explorar la agrupación de los datos se usaron los métodos de Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis Discriminante Cuadrático (ADC).

Para el Análisis de Componentes Principales (ACP), primero se hizo la prueba de correlación de Spearman para descartar variables redundantes (correlación  $>0.8$  y criterio de causalidad) y el análisis se implementó a través de la paquetería *FactoMineR* versión 2.8 (Sebastien et al. 2008). La separación por grupos que mostró el ACP motivó la generación de un análisis discriminante de tipo supervisado (Ripley, 1996) Para este análisis, se emplearon los grupos previamente identificados en el ACP. La elección del Análisis Discriminante Cuadrático (ADC) se basó en la ausencia de normalidad multivariada y univariada según la prueba de Mardia, así como en la falta de covarianza homogénea de los datos. La normalidad multivariada y univariada de los datos se evaluó usando la prueba de Mardia con la paquetería *MVN* versión 5.9 (Korkmaz et al., 2014) y se identificó la covarianza entre grupos con la paquetería *biotools* versión 4.2 (Silva & Malafaia, 2017). El ADC incluyó las seis variables empleadas en el ACP y se generó con la paquetería *MASS* versión 7.3-58.2 (Venables & Ripley, 2002) utilizando el 80% de los datos para entrenamiento y el 20% como datos de prueba. Finalmente, los gráficos de partición se elaboraron con la paquetería *KlaR* versión 1.7 (Weihs et al., 2005).

## 6.4 Fase de laboratorio

### 6.4.1 Extracción de ADN

Se colectaron 140 muestras de excretas en campo que se fijaron en etanol absoluto desde su colecta y se almacenaron a -20°C. El número de muestras por sitio se detalla en el Anexo 3. Se extrajo ADN de las muestras a través de dos métodos: a) kit *QIAamp DNA extraction Stool Mini Kit* (Qiagen), y b) protocolo CTAB-Acetato (Vega-Hernández, 2019), los cuales obtienen ADN genómico a partir de células epiteliales procedentes de la superficie de excretas en mamíferos (Menchaca et al., 2019; Vega 2019). La calidad del ADN se observó mediante la visualización en gel de agarosa al 1% y se verificó por espectrofotometría con Nanodrop 2000 ®ThermoScientific, usando los valores de 260/280 para evaluar la pureza con valores de absorbancia aceptables entre 1.6 a 2.0 y se obtuvo la concentración en ng/μl para diluir el ADN a 30 ng/μl.

### 6.4.2 Amplificación de marcadores moleculares

Se usaron marcadores moleculares para amplificar genes usados en la determinación del sexo en mamíferos, estos oligonucleótidos se basan en la amplificación de la región del cromosoma Y que determina el desarrollo de caracteres masculinos (SRY) y solo amplifica en machos. La amplificación de su gen homólogo (ZFX) se usa como control positivo para verificar que la ausencia de amplificación sea porque los individuos son hembras y no por errores en la reacción. Esta metodología se ha usado en diversos grupos de mamíferos incluyendo el ciervo sika (Yamazaki et al. 2011). Se usaron los oligonucleótidos SRY forward de secuencia 5' CCCATGAACGCATTCATTGTGTGG 3' y reverse 5' ATTTTAGCCTTCCGACGAGGTCGATA 3' (Jayasankar et al., 2008) y los del gen ZFX0582F forward 5' ATAGGTCTGCAGACTCTTCTA 3' y ZFX1204R reverse 5' GCACTTCTTTGGTATCTGAGAAAAGT 3' (Bérubé & Palsboll, 1996).

Por su parte, para la caracterización genético poblacional se usó el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI), el cual tiene tasas de sustitución rápidas, es haploide, de herencia materna y ya se ha reportado como gen polimórfico a nivel intraespecífico en venado cola blanca (Ambriz-Morales et al., 2015). Este fragmento se ha usado en la inferencia de patrones filogeográficos, diferenciación de Unidades Evolutivamente Significativas, Unidades de Manejo Genético, estimaciones de diversidad genética poblacional y para evaluar

el grado de conservación en poblaciones (Moritz, 1994; Ortega & Maldonado, 2020). Se usaron los oligonucleótidos universales COI-1 forward 5' ATTCAACCAATCATAAAGA 3' y reverse 5' TAAACTTCTGGATGTCCAA 3' (Hajibabaei et al., 2006).

La amplificación se hizo por reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), usando el kit de Qiagen® Multiplex PCR Master Mix y ADN a 30ng/μl; las condiciones de PCR para cada oligonucleótido se describen con detalle en Anexo 5. El producto de PCR se visualizó en geles de agarosa al 1.5%, se identificó por la longitud esperada de ~200 pb en SRY, ~100 pb en ZFX y ~650 pb en COI. Para los oligonucleótidos SRY y ZFX se amplificaron 85 muestras y para COI solo se obtuvo amplificación en 37 muestras. La diferencia en el número de muestras amplificadas se debió a la inespecificidad de la amplificación (presencia de múltiples bandas), lo que persistió a pesar de varios intentos de estandarización. Por esta razón, no fue posible amplificar las muestras de todos los individuos.

#### 6.4.3 Procedimiento para secuenciación

Se realizó secuenciación con la técnica Sanger, que se basa en la reacción enzimática interrumpida usando un fragmento molde de la PCR convencional previamente purificado, dideoxinucleótidos marcados con fluoróforos y solo un oligonucleótido (Márquez et al., 2014). Se secuenciaron amplicones de los oligonucleótidos para identificación de sexo en mamíferos (SRY/ZFX) y Citocromo Oxidasa I (COI). Solo en el caso de COI el oligonucleótido usado fue el *reverse* porque el producto final tuvo mejor lectura en el electroferograma. Para preparar la muestra a secuenciar se purificó en columnas de Sephadex antes y después de la reacción de PCR de secuenciación con la metodología descrita en el Anexo 6.

La calidad del electroferograma se revisó y corrigió manualmente en el programa MEGA11, version 11.0.9. (Tamura et al., 2021). Se realizó un análisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI en MEGA 11. Para el fragmento COI, se usaron solo secuencias con correspondencia de 98% o superior con la especie. Adicionalmente, las muestras se alinearon con el genoma mitocondrial completo de la especie disponible en Genbank (NCBI, disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) con número de acceso NC\_015247.1 y del genoma mitocondrial identificado como diferentes subespecies mexicanas con códigos de acceso KM612273.1, KM612278.1 y KM612279.1 para identificar la región del genoma amplificada y los sitios polimórficos.

Una vez iteradas las secuencias, se alinearon con el algoritmo ClustalW (Thompson et al., 2019) en MEGA (Tamura et al., 2021) y se cortaron los extremos para eliminar sitios con errores en la amplificación. Puesto que COI fue el único fragmento con sitios polimórficos del que se obtuvieron amplificaciones (longitud final: 607 pb), se consiguió un grupo de datos de 37 secuencias correspondientes a 14 localidades de la RBSGG, con los que se calcularon los valores de diversidad y se realizaron los análisis genéticos descritos en las siguientes secciones.

## 6.5 Análisis genético-poblacionales

### 6.5.1 Proporción de machos y hembras

Con la amplificación de los marcadores SRY/ZFX se obtuvo la información del número de individuos por sexo presentes en la población. Cabe mencionar que solo se usaron las muestras cuya amplificación en ambos genes de identificación de sexo fueron exitosas para descartar falsos positivos. Cuando no se obtuvo banda de amplificación en SRY (que amplifica solo en machos) se usó el amplicón ZFX como control positivo para determinar que si existía ADN correspondiente a la especie en la muestra. Se descartaron las muestras que no amplificaron en control positivo por posible inespecificidad del ADN. A partir del número de individuos por sexo se estimó la proporción de machos y hembras. Adicionalmente, el tamaño efectivo poblacional se calculó usando la proporción de machos y hembras recién mencionada, mediante la fórmula de Wright (1969), donde se asume que todos los individuos de la muestra son adultos reproductores:

$$N_e = 4 N_m N_f / [ N_m + N_f ]$$

donde:

$N_e$  es el tamaño efectivo poblacional

$N_m$  es el número de machos

$N_f$  es el número de hembras

### 6.5.2 Diversidad genética

Se emplearon métricas de diversidad genética para inferir el grado de conservación de la población tales como: el número de sitios segregantes, el número de haplotipos, la diversidad haplotípica, la diversidad nucleotídica y el número promedio de diferencias nucleotídicas. Los parámetros recién mencionados se calcularon usando el programa DnaSP versión 6.11 (Rozas et al., 2017).

Adicionalmente, se obtuvieron las métricas de Theta de Watterson y D de Tajima, puesto que ambas son útiles para investigar los patrones de polimorfismos y las diferencias genéticas entre haplotipos, así como inferir la estructura poblacional mediante las diferencias en tasas de mutación entre haplotipos o grupos (Schweizer et al., 2018). Por un lado, Theta de Watterson ( $\theta_W$ ) estima la tasa de mutación poblacional y refleja la diversidad genética basada en el número de sitios segregantes (sitios polimórficos) en una muestra de secuencias de ADN. Esta medida asume un equilibrio entre la mutación y la deriva genética bajo un modelo neutral (Watterson, 1975). Mientras que la D de Tajima identifica posibles desviaciones de la evolución neutra, donde un valor positivo puede indicar una selección equilibrada, mientras que un valor negativo sugiere una selección purificadora o disminución reciente de la población.

En conjunto, la D de Tajima complementa a  $\theta_W$  al proporcionar información sobre los procesos evolutivos que subyacen a la diversidad genética ayudando a identificar si la variación genética observada se debe a la evolución neutra, a los cambios demográficos o a presiones de selección en la historia poblacional (Korstian et al., 2015; Schweizer et al., 2018). Estas herramientas además de ayudar a evaluar la erosión genética de una población son útiles para inferir los efectos del paisaje sobre la estructura genética poblacional y los procesos demográficos de las especies frente a cambios ambientales recientes (Korstian et al., 2015).

### 6.5.3 Diferenciación genética

Con el fin de evaluar el efecto de la heterogeneidad espacial en el flujo génico, se usaron pruebas para identificar la diferenciación entre individuos o grupos, estas herramientas exploran la posibilidad de aislamiento por distancia geográfica (Comparación entre individuos, Prueba de Mantel; Mantel, 1967) y de aislamiento por barrera (Máximas diferencias entre individuos, Prueba de Monmonier; Patten & Smith-Patten, 2008).

Por otro lado, se planteó una hipótesis indirecta basada en la posible asociación entre la diversidad genética y atributos específicos del paisaje. Para evaluar esta hipótesis, se utilizó la prueba AMOVA (Excoffier et al., 1992), considerando algunas variables empleadas en el modelo de Índice de Idoneidad del Hábitat (IIH). Los grupos se definieron según las condiciones contrastantes del hábitat empleando grupos de calidad del hábitat definidos por cuartiles y atributos tales como altitud, tipos de vegetación y la influencia de elementos antrópicos. Se usaron estos atributos basados en la asociación de las variables en la diferenciación genética (Anexo 2), con la abundancia relativa detectada con cámaras trampa

(Tafolla, 2016) y la capacidad de las variables para discriminar grupos según la ocurrencia de la especie de acuerdo con los métodos multivariados empleados en este trabajo (ver sección 6.3.5).

Prueba de Mantel simple: estima la correlación entre la distancia geográfica y genética entre individuos, es una de las pruebas más populares para evaluar los procesos espaciales que influyen en la estructura de la población (Diniz-Filho et al., 2013). Se ha usado para la evaluación de la conectividad en estudios genéticos del paisaje con mamíferos (Flores-Manzanero y Vázquez-Domínguez 2019) ya que prueba el patrón de aislamiento por distancia geográfica común en especies de alta movilidad. La prueba se hizo con la paquetería *ade4* (Dray & Dufour, 2007) con 10,000 repeticiones; esta prueba genera primero las distancias genéticas ayudándose de la paquetería *ape* (Paradis & Schliep, 2019). El modelo evolutivo óptimo para asignar a esta prueba se identificó previamente con el programa JModel test versión 2.1.10 (Darriba et al., 2012; Guindon & Gascuel, 2003) usando el Criterio de Información de Akaike.

Análisis de Monmonier: detecta bordes genéticos de una matriz de distancias usando las máximas diferencias entre objetos georreferenciados (Garrido-Garduño & Vázquez-Domínguez, 2013). Este algoritmo crea una red (teselación), identifica la distancia máxima y continúa hasta que encuentra el borde y se detiene cuando se forma un bucle o encuentra una barrera ya identificada. Los bordes se construyen de manera perpendicular a las líneas de las teselas y el borde se extiende en dirección a la línea con la máxima distancia pareada (Monmonier, 2010; Patten & Smith-Patten, 2008).

El análisis de Monmonier se implementó en la paquetería de R *adeget* 2.1.10 (Jombart, 2008) con el algoritmo optimizado que usar iteraciones de varios bordes devolviendo el mejor encontrado. Para obtener la red se usó el método *Neighbourhood by distance* usando distancias geográficas (euclidianas), cuyo valor mínimo fue de 0.063 y máximo de 0.775, el valor *Threshold* fue de 2.4 y se probó iterando con 99 bordes. Para las distancias genéticas se retuvo el primer componente de un Análisis de Componentes Principales hecho con la paquetería de R *ade4* (Dray & Dufour, 2007).

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA): estima los componentes de la varianza que reflejan la correlación de la diversidad haplotípica a diferentes niveles de subdivisión jerárquica (Excoffier et al., 1992). Considerando que algunos atributos como los tipos de vegetación y la altitud ya han sido previamente asociados con diferentes grados de abundancia relativa

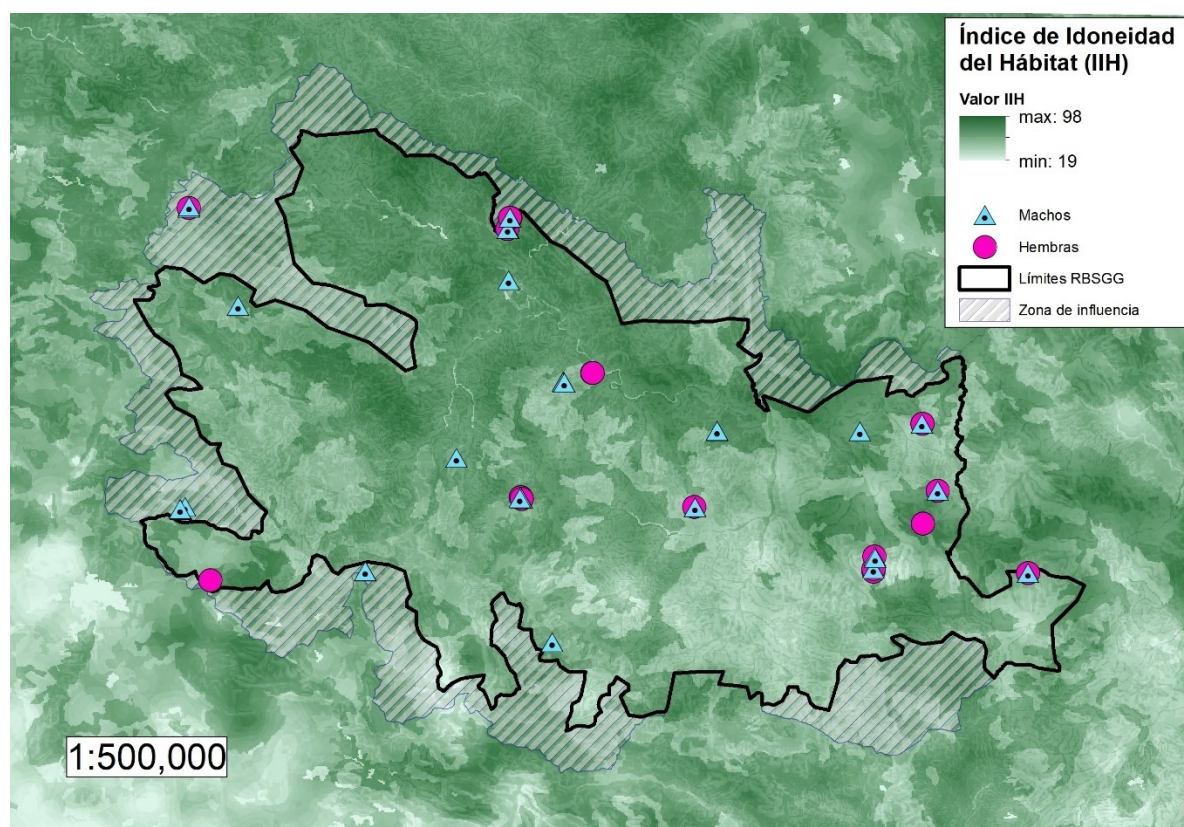
(Tafolla, 2016), se implementaron como niveles jerárquicos para la prueba AMOVA las localidades de colecta y agrupaciones de individuos separados por atributos de hábitat que podrían representar resistencia al movimiento y flujo génico. Así mismo, se agruparon individuos en categorías de calidad del hábitat, en diferencias altitudinales, tipo de vegetación y con base en los grupos obtenidos a partir del análisis multivariado (ver sección 6.3.5). Para el análisis se usó la paquetería *poppr* versión 2.9.4 (Kamvar et al., 2014) en R que implementa el método de la paquetería *ade4* versión 1.7-22 (Dray & Dufour, 2007) y prueba la significancia estadística usando 99 permutaciones.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Análisis espaciales

#### 7.1.1 Índice de Idoneidad del Hábitat y validación con datos de presencia.

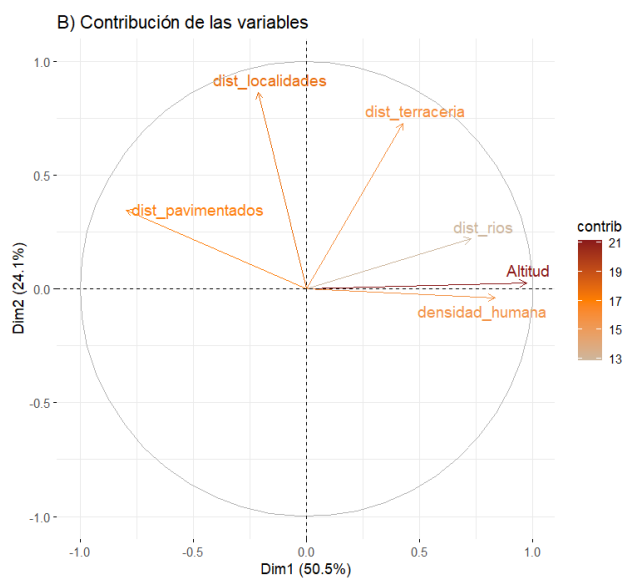
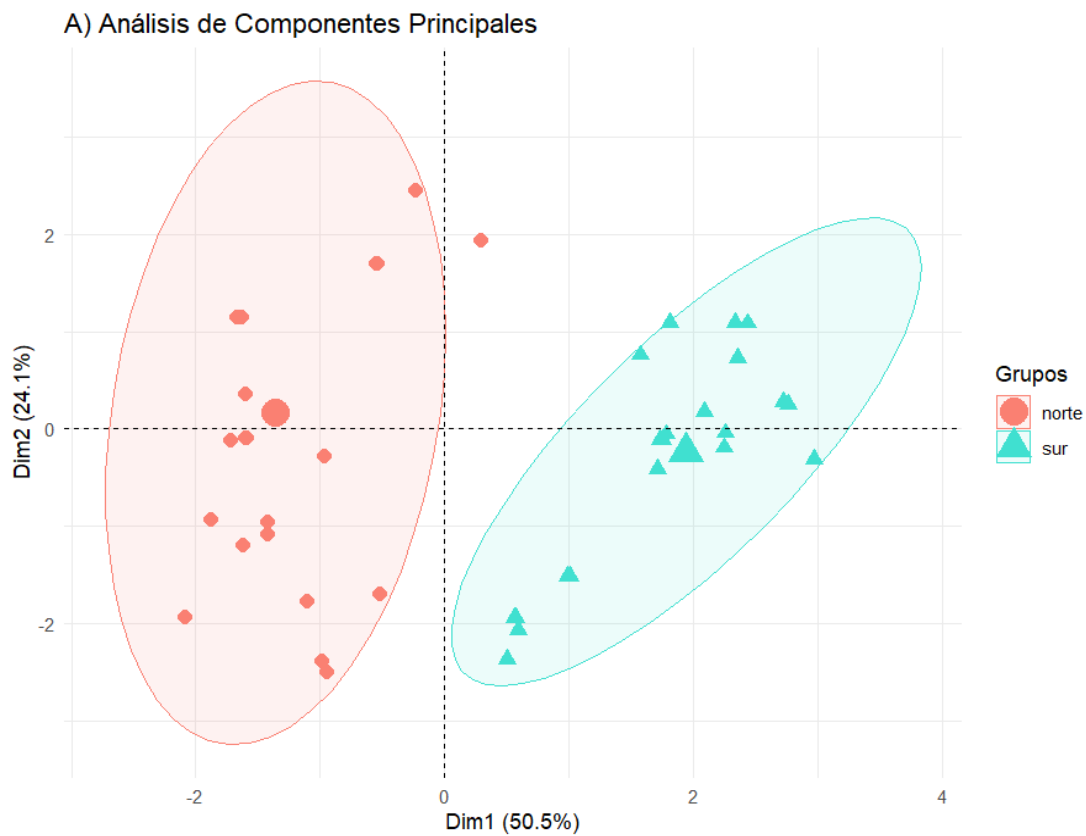
La amplificación de genes de sexado fue exitosa en 85 muestras, las cuales se consideraron confirmadas por métodos moleculares como venado cola blanca y se utilizaron para la caracterización del hábitat ocupado por la especie (ver Anexo 3). En este respecto, el 85.9% de los registros se asociaron con categorías desde calidad regular a alta, y el 14.1% a mala calidad del hábitat de acuerdo con el IIH. Además, el mencionado modelo de distribución potencial mostró categorías de buena y alta calidad hacia el norte de la RBSGG y valores de calidad baja hacia la parte sur (Figura 3). Por otro lado, de estos 85 individuos 63 fueron machos y 22 hembras (Figura 3). La media de la calidad del hábitat ocupada por hembras fue de 71.5 ( $\pm 10.33$ ) y de 70.66 ( $\pm 9.54$ ) para los machos, sin diferencias estadísticamente significativas de calidad del hábitat ocupada entre sexos (prueba de Wilcoxon).



**Figura 3.** Índice de Idoneidad del Hábitat para el venado cola blanca en la RBSGG y distribución de los machos (triángulos) y hembras (círculos).

El conjunto de datos de los valores de calidad del IIH extraídos a partir de los registros de presencia (n= 85) no se ajustó a una distribución normal (Prueba de Shapiro-Wilks  $p=0.005393$ ). Al comparar los datos de calidad del IIH contra un conjunto de datos aleatorio derivado de los mismos registros, la prueba de Wilcoxon indica que las muestras se diferenciaron significativamente ( $p < 0.005$ ). Por tanto, el modelo IIH puede ser un indicador apropiado para explicar la presencia del venado cola blanca -a diferencia de valores de calidad aleatorios- dado que representa el conjunto de condiciones ecológicas y del paisaje preferidos por la especie. Por otra parte, el análisis de las variables del paisaje extraídas a partir del conjunto de registros (n= 85) con análisis multivariado de tipo jerárquico y no jerárquico, indican una agrupación de los registros que segmenta la parte norte de la reserva y la parte sur.

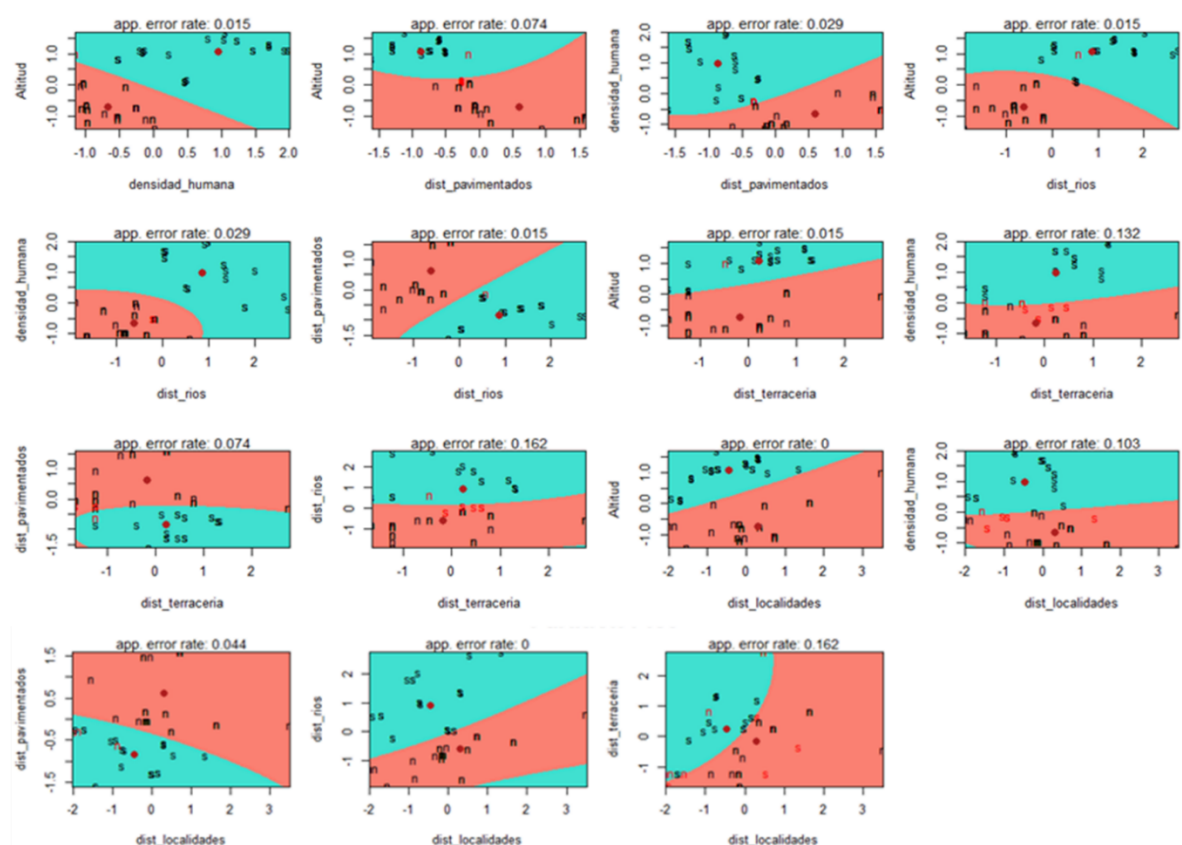
El Análisis de Componentes Principales (ACP) explica una varianza del 74.6% en los primeros dos componentes y agrupa los datos en dos configuraciones, el primero correspondiente a localidades ubicadas al norte de la Reserva y el segundo a localidades del sur (Figura 4). Los atributos del paisaje que se incluyeron en el ACP después de eliminar los altamente correlacionados ( $>0.8$ ) fueron seis y de acuerdo con el porcentaje de contribución al primer componente de mayor a menor fueron: 1) altitud (31.19%), 2) densidad humana (22.97%), 3) distancia a caminos pavimentados (20.90%), 4) distancia a ríos (17.43%), 5) distancia a caminos de terracería (5.97%) y 5) distancia a localidades (1.51%).



**Figura 4.** A) Análisis de Componentes Principales la varianza explicada por los componentes 1 y 2 es del 73.7% formando dos grupos. B) Variables usadas en el ACP, su ordenamiento hacia los componentes y porcentaje de contribución de las variables.

Adicionalmente, el Análisis Discriminante Cuadrático (ADC) distingue los límites de decisión para la asignación de los grupos norte y sur en los atributos del paisaje modelados separando los datos de prueba ( $n = 17$ ) con una precisión de predicción del 100% y un error de entrenamiento del 0% (Figura 5).

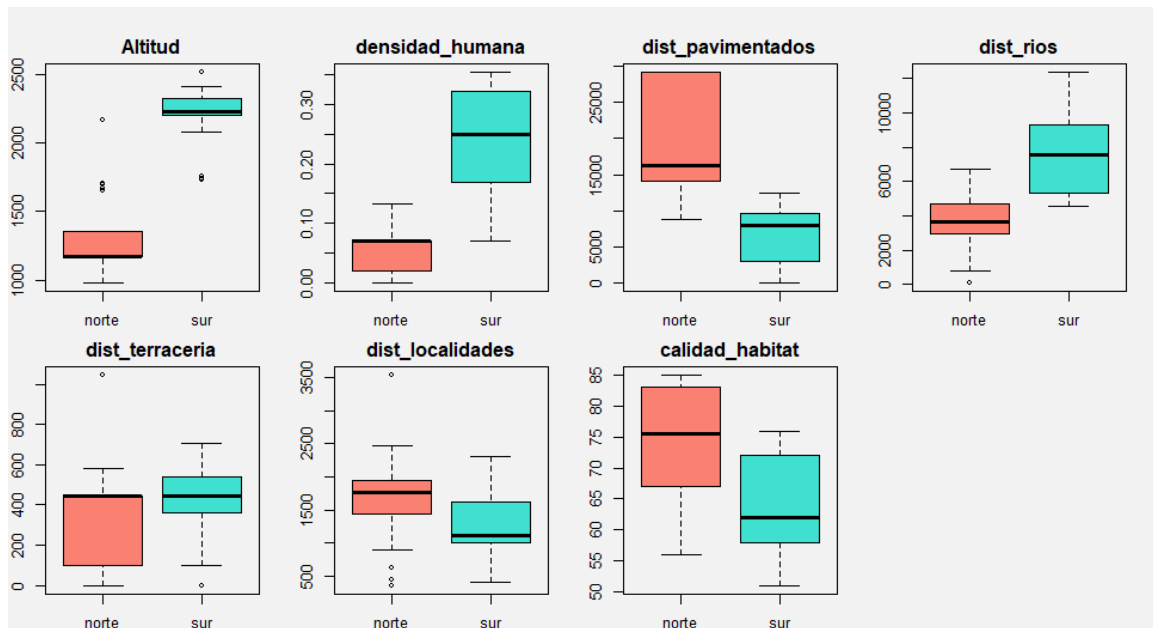
Gráficos de partición



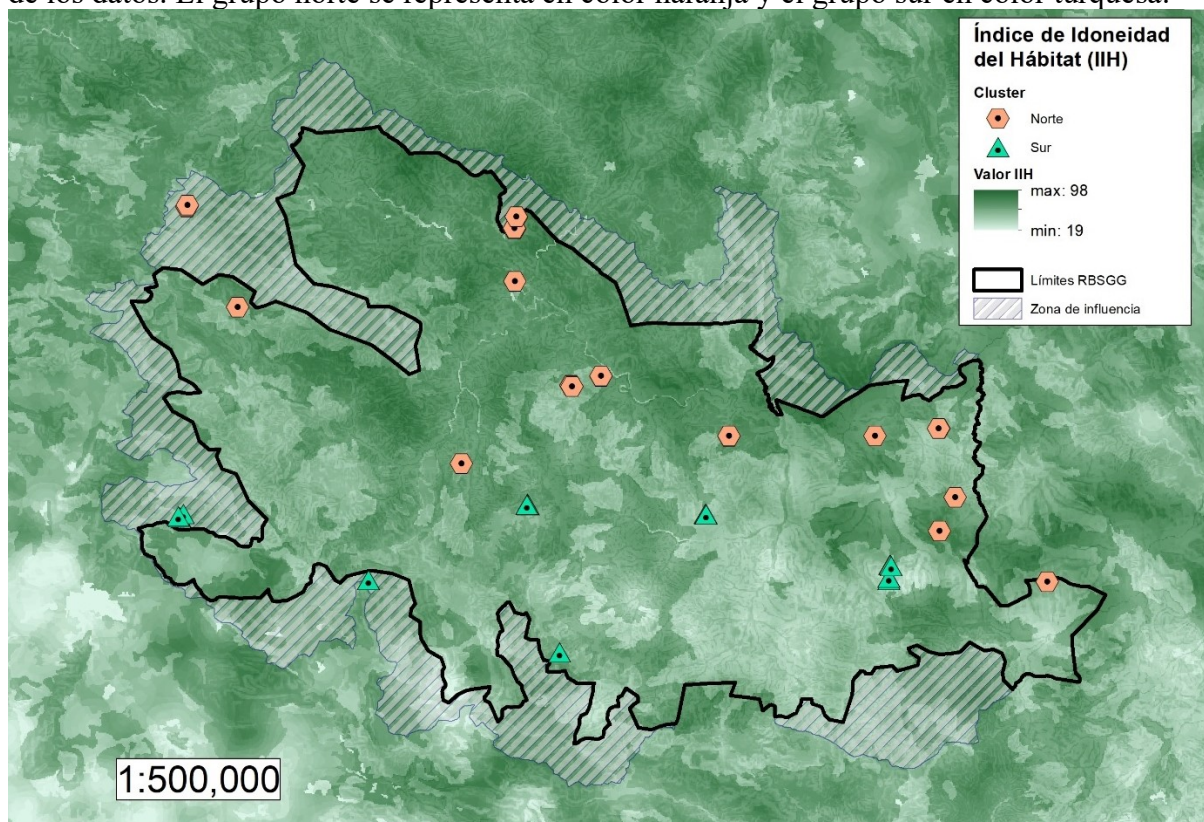
**Figura 5.** Gráficos de partición de las variables del Análisis Discriminante Cuadrático (ADC). Se presentan los límites de decisión para cada par de variables utilizadas en el modelo ADC. Las asignaciones de grupo se identifican con la letra “n” para el grupo norte y con “s” para el grupo sur, las asignaciones correctas se identifican con fuente color negro, mientras que las asignaciones incorrectas se representan con fuente color rojo. La tasa de error para la asignación de grupo en cada par de variables se indica en la parte superior del gráfico correspondiente.

Esta concordancia con los resultados del ACP y ADC en la distinción de los dos grupos, incentivó a realizar una comparación de la calidad del hábitat entre individuos del norte y sur utilizando el Índice de Idoneidad del Hábitat (IIH) como variable de respuesta. Por tanto, usando la prueba de Wilcoxon también se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la calidad del hábitat ( $p = 0.034$ ) que ocupan los individuos de venado cola blanca en el norte con respecto a individuos del sur de la RBSGG. Las diferencias en los atributos del paisaje y la calidad del hábitat para cada grupo se detallan en los gráficos de caja

de la Figura 6 y la distribución espacial de los registros correspondientes a los grupos norte y sur en la Figura 7.



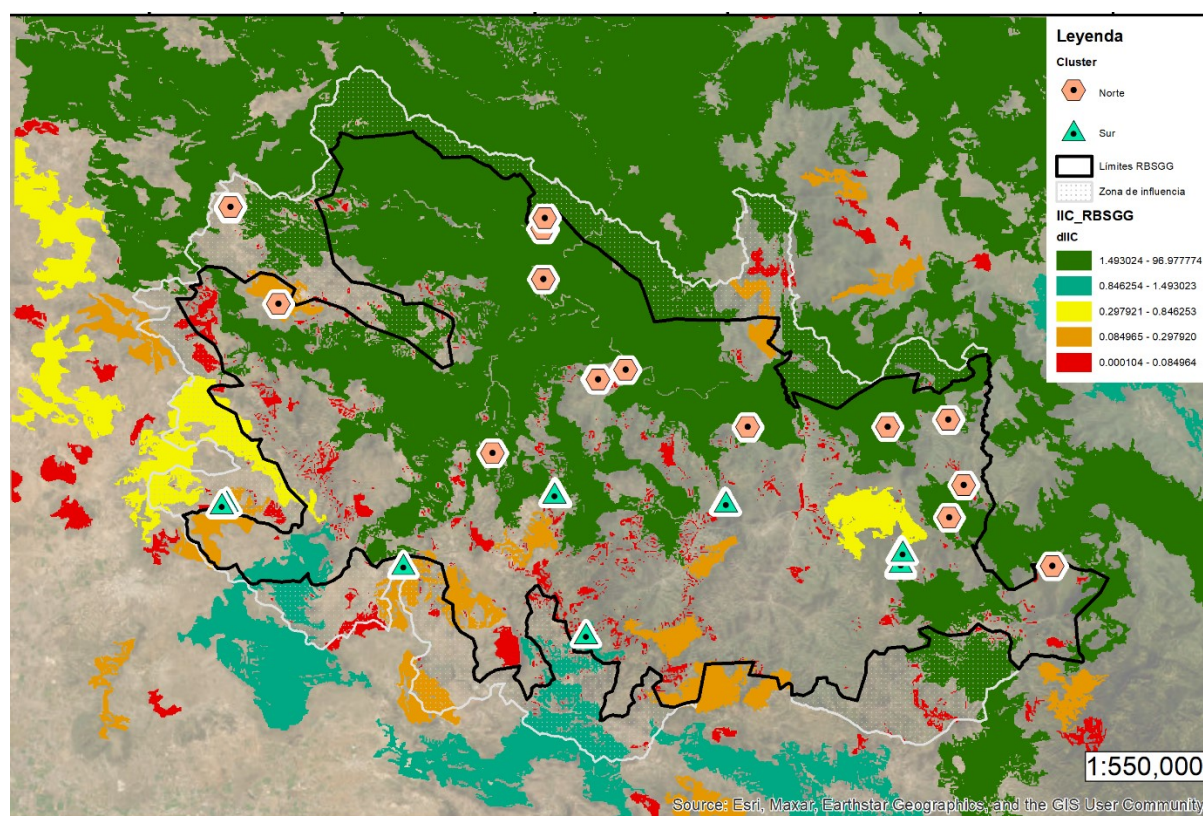
**Figura 6.** Gráfico de cajas de los atributos del paisaje usado en el ordenamiento multivariado de los datos. El grupo norte se representa en color naranja y el grupo sur en color turquesa.



**Figura 7.** Distribución geográfica de los grupos norte y sur obtenidos a partir del análisis multivariado y calidad del hábitat según IIH.

### 7.1.2 Índice Integral de Conectividad: Priorización de parches y área mínima viable

El polígono de la RBSGG cuenta con una superficie de 236,178 ha de las cuales 158,575 ha son zona de amortiguamiento y 77,603 ha son zona núcleo. En el cálculo del área mínima viable de acuerdo con los criterios de mayor calidad del hábitat y mayor valor de conectividad (dIIC, Figura 8) se obtuvo que un total de 98,239 ha cumplen con ambas condiciones dentro del polígono de la RBSGG, de las cuales el 70.57% se encuentra en zonas de amortiguamiento y un 29.43% en la zona núcleo (Tabla 2).



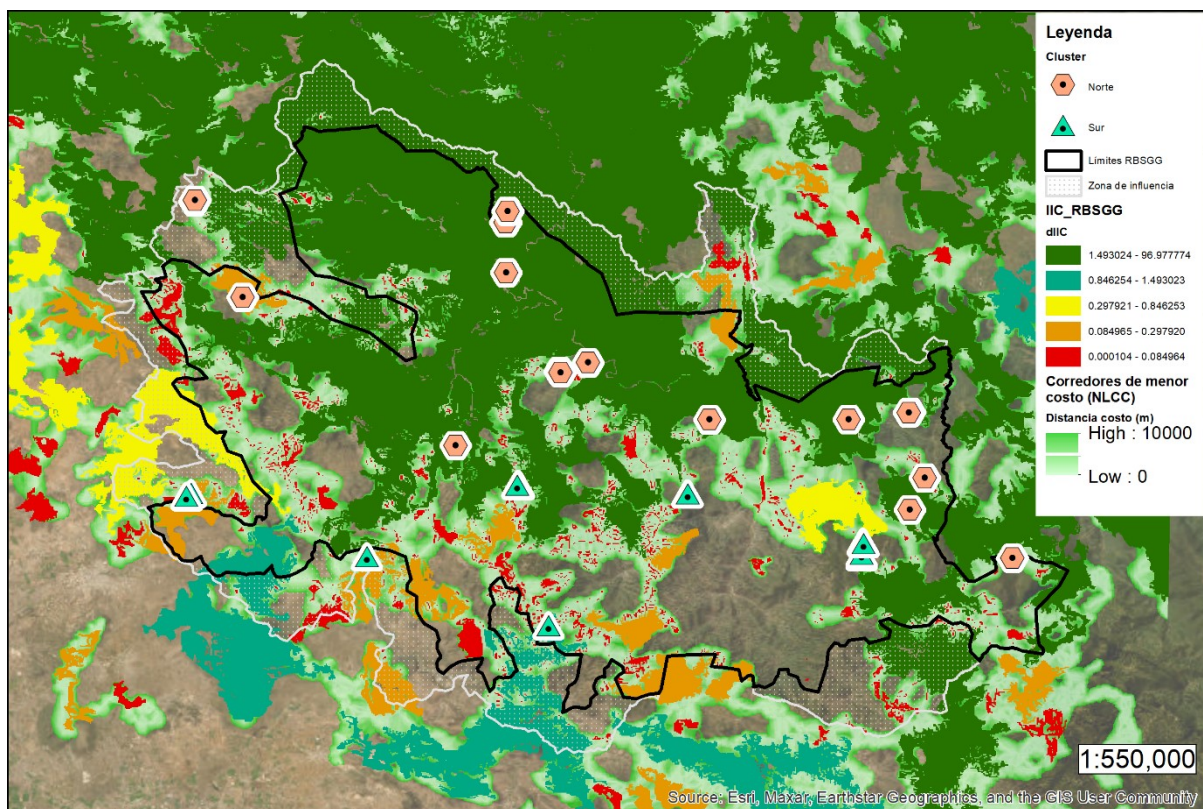
**Figura 8.** Índice Integral de Conectividad y zonificación de la RBSGG. Se muestra la distribución espacial de los parches más adecuados y su valor delta IIC (dIIC) de acuerdo con el Índice Integral de Conectividad. Los grupos Norte y Sur se identifican con los hexágonos y triángulos respectivamente.

**Tabla 2.** Estimación de Población Mínima Viable (PMV) basada en el Área Mínima Viable para la zonificación de la RBSGG. \*Se excluye del porcentaje porque no se considera parte del polígono.

| Zonificación RBSGG.     | Superficie (ha) de mayor calidad y valor IIC. | % de superficie del polígono de la RBSGG. | Individuos que puede sostener según AMV. |
|-------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|
| Zona de Amortiguamiento | 69,336                                        | 70.57%                                    | 5,000                                    |
| Zona núcleo             | 28,903                                        | 29.43%                                    | 500 venados                              |
| Zona de influencia*     | 34,307                                        | -                                         | 500 venados                              |

### 7.1.3 Corredores biológicos

A partir del modelo de conectividad funcional obtenido con el Índice Integral de Conectividad (IIC, Figura 8), el modelo de corredores biológicos resultante muestra un hábitat potencialmente conectado entre todos los parches considerados prioritarios bajo el criterio de alta calidad del hábitat (ver sección 6.3.2 en métodos para la asignación de nodos a conectar) en el polígono de la RBSGG (Ver Figura 9).



**Figura 9.** Corredores biológicos para el venado cola blanca, con ancho de corredor y distancia máxima de dispersión de 10 km.

## 7.2 Caracterización genético-poblacional.

### 7.2.1 Proporción de machos-hembras y tamaño efectivo poblacional.

De acuerdo con los resultados de amplificación de los genes de sexado (SRY/ZFX), del conjunto de 85 individuos (machos = 63, hembras = 22), la proporción de machos-hembras fue de 2.86 machos por cada hembra. El tamaño efectivo poblacional fue de 65.22 (fórmula de Wright, 1969).

### 7.2.2 Diversidad genética

Se amplificó un fragmento del ADN mitocondrial Citocromo Oxidasa 1 (longitud de 607 pb) en 37 individuos procedentes de 14 localidades de la RBSGG (ver Anexo 3). La diferencia entre el número total de muestras colectadas y el recién reportado corresponde a la imposibilidad de amplificar el fragmento en 48 individuos -de los 85 identificados como venado cola blanca mediante los genes de sexado de mamíferos- a pesar de diferentes ajustes al proceso. Las secuencias amplificadas se subirán a la plataforma Genbank del NCBI (NCBI, disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). El amplicón obtenido se ubica en la región de la posición 5386 a la 5977 del genoma mitocondrial completo de la especie (Número de acceso NC\_015247.1 en Genbank), tiene 12 loci variables (bi-alélicos) de los cuales cinco son sitios *parsim-info*, siete sitios *singleton*, para un total de 24 alelos en la población. La diversidad genética de la población (n=37) y de los grupos norte (n=28) y sur (n=9) -clasificados según análisis de las variables del paisaje-, indica que hay mayor diversidad haplotípica que nucleotídica, así como mayor diversidad de haplotipos en el grupo norte (ver Tabla 3). Finalmente, el parámetro D-Tajima presentó valores negativos no significativos.

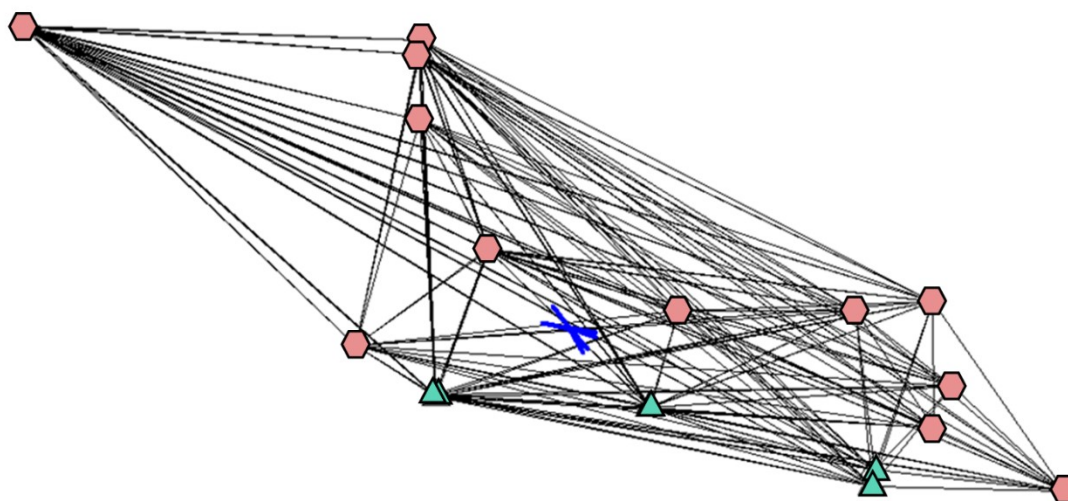
**Tabla 3.** Índices de diversidad genética de la población y por grupos.

|                                                            | <b>Total</b>         | <b>Norte</b>         | <b>Sur</b>           |
|------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Número de secuencias                                       | 37                   | 28                   | 9                    |
| Número de sitios segregantes                               | 12                   | 11                   | 2                    |
| Número de haplotipos (Nei 1987)                            | 9                    | 8                    | 3                    |
| Diversidad haplotípica (Nei 1987)                          | 0.785±0.040          | 0.806±0.043          | 0.555±0.165          |
| Diversidad nucleotídica (Pi) (Nei 1987)                    | 0.00398±0.00036      | 0.00414±0.00036      | 0.00101±0.00035      |
| Diversidad nucleotídica con JC (PiJC)                      | -                    | 0.00415±0.00036      | 0.00101±0.00035      |
| Número Promedio de diferencias nucleotídicas (Tajima 1983) | 2.417                | 2.510                | 0.611                |
| Theta-W (por sitio)                                        | 0.00474±0.00190      | 0.00466±0.00197      | 0.00121±0.00093      |
| Tajima's D                                                 | -0.49719<br>(p>0.10) | -0.36544<br>(p>0.10) | -0.58325<br>(p>0.10) |

### 7.2.3 Detección de bordes genéticos

El borde encontrado en el análisis de Monmonier se ubica entre los grupos norte y sur - delimitados previamente con base en el conjunto de atributos del paisaje-; el límite se extiende desde el centro de la zona núcleo en dos direcciones, divide a la RBSGG en norte y sur, así como en suroeste y noreste de acuerdo con las coordenadas: -100.05 N, 21.42 W a -100.05 N, 21.42 W en la dirección 1 y -100.05 N, 21.42 W a -100.05 N, 21.42 W en la dirección 2 (Figura 10).

Por otra parte, la prueba de Mantel tuvo un valor no significativo (valor esperado= 0.0002, valor observado= 0.038,  $p= 0.220$ , modelo evolutivo: F81, Felsenstein, 1981). Esto indica la ausencia de un patrón de aislamiento por distancia geográfica entre individuos y refuerza la suposición del aislamiento por barrera.



**Figura 10.** Detección de límites genéticos con análisis de Monmonier. Red de conexiones entre vecinos y borde genético; los hexágonos representan los individuos del grupo norte y los triángulos grupo sur, las líneas negras las conexiones de la red, las líneas azules indican el borde genético en sus direcciones 1 y 2.

### 7.2.4 Análisis de Varianza Molecular

La proporción de variación haplotípica atribuida a diferencias entre grupos no tuvo significancia estadística para la prueba del AMOVA probando con variables del paisaje antrópicas, ni entre los grupos identificados como norte y sur o entre los grupos de calidad del hábitat definidos por cuartiles. De todas las variables comparadas, dos atributos naturales del

paisaje explican una proporción de heterogeneidad haplotípica significativa, la altitud y tipos de vegetación (ver distribución de la heterogeneidad espacial en anexo 7). La altitud separa entre grupos por debajo y por arriba de 1500 msnm ( $\Phi = 0.35$ ) y entre localidades dentro de estos grupos ( $\Phi = 0.37$ ); por su parte, los tipos de vegetación mostraron diferencias entre grupos ( $\Phi = 0.32$ ) y entre localidades dentro de tipos de vegetación ( $\Phi = 0.31$ ). El porcentaje de variación, valores de phi ( $\Phi$ ) y p-valor de la prueba de significancia se muestran en Tabla 4 y la distribución espacial de estas variables se el Anexo 7.

**Tabla 4.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), Phi ( $\Phi$ ) y valor de significancia según prueba Monte-Carlo con 10,000 repeticiones. \* Indica significancia estadística.

|                                         | % de variación | Phi   | p-valor prueba de Monte-Carlo |
|-----------------------------------------|----------------|-------|-------------------------------|
| Comparaciones entre altitud             |                |       |                               |
| Entre altitud                           | 35.445         | 0.354 | 0.019*                        |
| Entre localidades dentro de altitud     | 24.141         | 0.373 | 0.001*                        |
| Dentro de localidades                   | 40.413         | 0.595 | 0.0001*                       |
| Comparaciones entre tipos de vegetación |                |       |                               |
| Entre vegetación                        | 32.830         | 0.328 | 0.031*                        |
| Entre localidades dentro de vegetación  | 21.190         | 0.315 | 0.031*                        |
| Dentro de localidades                   | 45.978         | 0.540 | 0.0002*                       |

## 8. DISCUSIÓN

El presente estudio aborda la conectividad funcional del venado cola blanca como la primera caracterización poblacional de la especie en la RBSGG, para evaluar aspectos relacionados con su conservación y manejo. Como era previsible, el venado cola blanca presenta tamaños efectivos poblacionales grandes y potencial para la persistencia a largo plazo en la RBSGG. Sin embargo, los resultados de esta investigación indican condiciones heterogéneas en la calidad del hábitat, diferentes grados de conectividad y la presencia de una potencial barrera (posiblemente perceptual) que afecta el flujo génico en el centro de la RBSGG. Dado que las barreras perceptuales ya han sido documentadas en ungulados (Ciach & Fröhlich, 2019; Ganz et al., 2024; Padié et al., 2015) y que se evidencia la presencia de un borde de diferenciación genética, se plantea que la población de venado cola blanca en la RBSGG está segmentada en dos grupos (norte y sur) con niveles contrastantes de diversidad genética y condiciones paisajísticas. Estos aspectos deben ser considerados en medidas de conservación y manejo, así como para futuros estudios en la especie u otros mamíferos de alta movilidad en la zona de estudio.

Entre las fortalezas de este estudio está la presentación de datos que no habían sido evaluados en ANP del centro del país como la caracterización genética de la población, la estimación del tamaño efectivo poblacional, el Área Mínima Viable y la conectividad funcional de la especie. En este último, se agrega el uso de datos empíricos para validar modelos predictivos (distribución potencial y conectividad) con dos tipos de evidencia, la presencia de la especie y su diversidad genética. La recopilación de información espacial a escala local fue crucial para evaluar aspectos que otros trabajos a escala amplia no habían resuelto. La amplificación de ADN mitocondrial fue útil para la detección de Unidades de Manejo genético y consideraciones respecto al acervo genético local. Entre las limitaciones están la falta de datos para ajustes al modelo de conectividad aquí presentado -como registros de ausencias, datos de abundancia y datos genéticos de ADN nuclear-, que, aunque no eran objetivos de este trabajo podrían considerarse para futuros estudios. Dicho lo anterior, se discuten los resultados primeramente en los aspectos generales de la caracterización poblacional, seguido de la comprobación de los modelos con datos espaciales-genéticos.

### 8.1 Caracterización poblacional de venado cola blanca: proporción de sexos, calidad del hábitat, conectividad y caracterización genética.

En sus características generales, la población presentó una relación de sexos de 74.11% machos y 25.88% hembras; esta condición no es consistente con otros estudios, pero es una proporción muy variable entre poblaciones: algunos estudios reportan un mayor número de hembras (86%) que de machos (14%) (Crawford et al., 2018), otros un número equitativo de 44% hembras y 56% machos (Locher et al., 2015). Adicionalmente, Kie & Bowyer, (1999) indican que la variación puede suceder por segregación espacial por sexo debido a usos espaciales y temporales, por la mayor detectabilidad de machos en ciertos parches debido a su capacidad de desplazamiento. Puesto que, la temporada de colecta de esta investigación (durante otoño, de principios de septiembre a noviembre) fue en un periodo que se considera temporada reproductiva en latitudes cercanas (Arenas, 2011; Pérez-Gutiérrez, 2014) donde los machos se desplazan por comportamientos relacionados con el apareamiento, este es un sesgo posible que debiera considerarse en futuros estudios para efectos de comparación y descartar sobreestimaciones.

Por otro lado, la caracterización genética a través del fragmento CO1 es comparable con otras secuencias de ADN mitocondrial -como el marcador de longitud similar D-loop- de otras poblaciones reportadas en Norteamérica. Los valores de diversidad ( $h=0.78529$  y  $\pi=0.00398$ ) fueron menores respecto a otras poblaciones reportadas por autores como Molina (2002), Ambriz (2010), Hernández-Llamas (2014), Serna (2016) y Rogers et al. (2011). Sin embargo, los valores de  $h$  y  $\pi$  aquí reportados y en la literatura tienen en común una relación de alta diversidad nucleotídica con baja diversidad haplotípica. Serna- Lagunes (2016) explica que esta relación puede ser indicador de un efecto cuello de botella seguido de crecimiento poblacional acelerado y mutaciones acumuladas, consistente con el valor negativo de  $D$  de Tajima reportado en su investigación. Por su parte Rogers et al. (2011) explica que los niveles de diversidad haplotípica se asocian con la formación de linajes por procesos de cambios paisajísticos antiguos y área de distribución de la especie. El valor  $D$  de Tajima aunque es negativo no es significativo, por lo que se sugiere explorar la magnitud de los cambios demográficos históricos y no se descarta que el patrón de diversidad aquí encontrado pueda asociarse con los procesos que sugiere Rogers et al. (2011).

Por el contrario, a pesar de los niveles bajos de diversidad observados, se estimó que el tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) calculado a partir de la fórmula de Wright es de 65.22,

supera los valores encontrados en poblaciones de cérvidos que habitan en hábitats aislados o fragmentados. Por ejemplo, la población de *Rangifer tarandus caribou*, que se encuentra aislada y en declive, presenta un  $N_e$  de 16 (Pelletier et al., 2019). De manera similar, una población local de *Cervus elaphus* ha experimentado cuellos de botella severos, con  $N_e$  entre 2 y 8 (Zachos et al., 2016), mientras que la población en peligro *C. e. hanglu* presenta un  $N_e$  de 20, no obstante, estas investigaciones emplearon métodos genéticos para la obtención del  $N_e$  por lo que la comparación no es necesariamente equivalente. Algunos estudios sugieren que un valor de  $N_e$  de 50 podría ser insuficiente para evitar la depresión por endogamia, y que se necesita un  $N_e$  superior a 100 para mantener la adecuación genética (Frankham, 1995 citado por Pelletier et al., 2019). Hoban et al. (2020) sugiere que un  $N_e$  mayor a 500 previene la erosión genética, donde, bajo el contexto de metapoblaciones, este valor de 500 debe ser evaluado considerando la diversidad genética y funcional entre poblaciones, así como las delimitaciones por ecorregiones o datos genéticos para especies de distribución continua. Este criterio se aplicaría, por ejemplo, a las poblaciones de venado cola blanca a lo largo de su distribución. A pesar de esta recomendación, aún existen lagunas en la información sobre los valores de  $N_e$  en estudios a gran escala.

Para efectos comparativos del  $N_e$  hallado en la muestra de la RBSGG, es fundamental considerar lo siguiente: Primero, se utilizó la fórmula de Wright y no métodos genéticos basados en el desequilibrio de ligamiento, lo que debe tenerse en cuenta para el monitoreo a largo plazo y para comparaciones con otras poblaciones. Segundo, el  $N_e$  puede ser influenciado por una proporción desigual de sexos, como en este estudio, y por fluctuaciones en el tamaño poblacional (Frankham, 1995; Wright, 1969). Esto sugiere la posibilidad de una sobreestimación, ya que investigaciones previas muestran mayor detección de grupos fecales y menor segregación por sexos durante el otoño (Vega-Hernández, 2019), lo que podría generar un  $N_e$  superior en comparación con otras estaciones, como la de partos (verano). Tercero, la RBSGG representa una delimitación artificial de una "población" para los fines de este estudio, ya que se acotó a los individuos encontrados dentro del polígono con el objetivo de conservar la especie dentro de esta Área Natural Protegida. Se presume que la RBSGG se encuentra en el límite geográfico de dos subpoblaciones asociadas a distintas condiciones ecológicas, como se define en las ecorregiones propuestas por Mandujano et al. (2010). Bajo este supuesto, la RBSGG representaría un fragmento marginal de dichas ecorregiones, por tanto, la muestra no es completamente representativa de ninguno de los dos demes. Esto subraya la importancia de delimitar a las subpoblaciones y determinar el  $N_e$  de cada una en futuras investigaciones.

Aunque este trabajo no resuelve completamente la estimación del tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ), establece un punto de partida importante para futuras investigaciones y abre el debate sobre el  $N_e$  de las subpoblaciones en el contexto de la conservación. Además, representa el primer estudio enfocado en la diversidad genética de los demes del venado cola blanca en la región, sentando así las bases necesarias para el monitoreo a largo plazo de la diversidad genética y la conservación del acervo genético local. Ambos resultados contribuyen al conocimiento en dos de las tres métricas utilizadas como indicadores pragmáticos en el mantenimiento de la diversidad genética propuestos por Hoban et al. (2020) en el Marco Global de Biodiversidad post-2020, para el mantenimiento de la diversidad genética, aplicable a todas las especies domesticadas y silvestres. Por consiguiente, será relevante el uso de estas dos métricas en estudios sobre el estado de conservación y de las subpoblaciones *in situ* y *ex situ* de la especie y el grado de conectividad genética entre subpoblaciones (Hoban et al., 2021).

Por otro lado, un indicador del tamaño de la población lo proporcionó la estimación del hábitat idóneo. Usando las estimaciones de superficie del hábitat idónea se calculó el Área Mínima Viable disponible, indicando que la RBSGG tiene el potencial de albergar una Población Mínima Viable (PMV) a largo plazo, según los criterios establecidos por Mandujano y González-Zamora (2009). Según los autores, este hallazgo era previsible debido a la extensión de las Reservas de la Biósfera en el país; sin embargo, este estudio confirma esta cualidad que no había sido evaluada en las Áreas Naturales Protegidas (ANP) del centro de México. El potencial de la RBSGG para mantener una PMV, junto con su proximidad a la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda de Querétaro y al Área de Protección de Flora y Fauna "Sierra de San Miguelito" en San Luis Potosí, la convierte en un sitio de importancia para la conservación a nivel regional, dada la dinámica metapoblacional de la especie (Allen et al., 2001; Mandujano & González-Zamora, 2009).

Adicionalmente, los modelos de IIH e IIC generados en esta investigación indican que la RBSGG cumple con 98,239 ha de hábitat idóneo con el mayor valor de conectividad. No obstante, el 70.57% de la superficie de estos parches se encuentra en zona de amortiguamiento con una distribución espacial que predomina al norte de la RBSGG y solo el 29.43% se ubica en zona núcleo. Consistente con las estimaciones basadas en el AMV y la relación que establece Mandujano & González-Zamora (2009), únicamente la zona de amortiguamiento cuenta con la superficie adecuada para potencialmente sostener una población de venado cola blanca a largo plazo (con capacidad de 5,000 individuos) mientras que la zona núcleo podría sostener potencialmente 500 venados.

En general, se encuentra concordancia con los resultados de Pérez-Vega et al. (2016) para *Puma concolor*, que detectó la zona centro-sur de la RBSGG -denominada “subzona de Xichú”- con nula conectividad y alta degradación forestal. Ambos trabajos son equiparables puesto que aplican la metodología del IIC con mamíferos de alta movilidad y las variables en ambos modelos combinan cobertura vegetal y variables antrópicas. La similitud en metodología y resultados aporta evidencia para considerar que parches de la zona centro-sur (algunos dentro de la zona núcleo del polígono) pueden estar bajo efectos de degradación, fragmentación o pérdida del hábitat para mamíferos de alta movilidad y disminución de la conectividad hacia zonas de hábitat idóneo.

En los siguientes párrafos se discuten las particularidades de los modelos y su concordancia con el uso del hábitat, la distribución de la especie y los resultados con datos genéticos asociados a la heterogeneidad espacial encontrada entre los grupos norte y sur de venado cola blanca en la reserva, entre ellos la presencia de una barrera genética en la región centro, diferentes valores de diversidad para los grupos norte y sur, y la diferenciación genética jerárquica asociada con algunas variables del paisaje.

## 8.2 Validación de los modelos

Los modelos IIH e IIC mostraron consistencia respecto a la distribución espacial de la especie y zonas de alta/baja calidad-conectividad, puesto que los registros de presencia muestran una agrupación en el norte y el sur con diferencias significativas de calidad del hábitat (prueba de Wilcoxon,  $p=0.03$ ). Estudios similares que usan IIH han empleado la ocurrencia de venado cola blanca como indicador del uso del hábitat y una forma de aproximación a la comprobación del modelo (Avey et al., 2003; Delfin-Alfonso et al., 2009; Medina-Torres et al., 2008), mientras que otros usan métricas de abundancia como variable de respuesta (Ramos-Robles et al., 2013; Sánchez-Rojas et al., 2009; Serra-Ortiz et al., 2008; Yañez-Arenas et al., 2012). Cabe destacar que, aunque en este trabajo no se estimó una métrica de densidad, la frecuencia de los registros en las diferentes categorías de calidad puede considerarse un acercamiento respecto a la abundancia. En suma, la distribución y uso del hábitat por la especie se encontró congruente con el modelo de Idoneidad del Hábitat generado.

## 8.3 Concordancia con datos genéticos

El análisis de datos genéticos permitió identificar las máximas diferencias entre haplotipos en el espacio geográfico (análisis de Monmonier) revelando la presencia de una barrera genética

en la región central de la reserva. En la investigación de Pérez-Vega et al. (2016) realizada en la RBSGG se informó de una barrera situada aproximadamente a 8 Km al norte de la barrera identificada aquí. Pérez-Vega et al. (2016) indica que la barrera interrumpe uno de los corredores de conectividad muy alta en la zona núcleo de la reserva y, aunque los autores no basaron su estudio en datos genéticos, se destaca la similitud en la ubicación geográfica de la barrera y la afectación de la conectividad para ambas especies. La presencia de esta barrera implica la existencia de un factor en la zona que restringe la dispersión y en consecuencia, la diferenciación genética de individuos geográficamente cercanos. Otras evidencias que sugieren aislamiento por barrera son: a) Las máximas diferencias entre haplotipos que corresponden a individuos de las proximidades geográficas del límite entre los grupos norte y sur (ver figura 10); b) la ausencia de un patrón de aislamiento por distancia geográfica (IBD, por sus siglas en inglés), c) la baja diversidad genética observada en el grupo sur, en contraste con el del norte (Tabla 3), y d) la moderada diferenciación genética entre grupos ( $\Phi_i \sim 0.3$ , Tabla 4) posiblemente asociada con atributos naturales del paisaje. Por tanto, se postula que hay un efecto de resistencia por barrera que podría explicar la distribución espacial de los haplotipos encontrados.

La presencia de un patrón de aislamiento por distancia geográfica es común en organismos de alta movilidad y ha sido ampliamente reportado en ungulados (Barbosa et al., 2022; Crawford et al., 2018; De La Rosa-Reyna et al., 2012; Fraser et al., 2019; Kuehn et al., 2007). Sin embargo, se destacan dos estudios que reportan la ausencia de IBD en ungulados. En el primero (Kuehn et al., 2007) reporta la presencia de barreras antropogénicas que subdividen a una población de *Capreolus capreolus* en tres grupos, causando un efecto de aislamiento donde el IBD solo es detectable al considerar todas las localidades de la región. Este ejemplo es ilustrativo porque ilustra un fenómeno de “escala del efecto”, esto es, la detección del limitado flujo génico por barrera en poblaciones locales que pasaría desapercibido a escala regional. En el segundo (Serna, 2016), las poblaciones de venado cola blanca geográficamente cercanas presentaron diferenciación genética mostrando que la adyacencia no implica alto flujo génico entre ellas. La falta de IBD concuerda con los hallazgos de Serna-Lagunes (2016), ya que una de las subpoblaciones (o subespecies) en su investigación tiene su área de distribución en la RBSGG, y según Mandujano et al. (2010) dos subespecies tienen su límite de distribución en la RBSGG. Por consiguiente, se plantea la posibilidad de que el borde genético coincida con la zona de contacto entre ambos demes.

En relación con la diversidad genética, se observa una disminución en el grupo sur en comparación con el norte (Tabla 3), junto con niveles moderados de diferenciación genética entre grupos ( $\Phi_i \sim 0.3$ ; Tabla 4). Estos resultados contrastan con los hallazgos de Rogers et al. (2011) quienes reportaron alta diversidad genética ( $h = 0.959$  y  $\pi = 0.016$ ) y bajos niveles de diferenciación ( $F_{st} = 0.057$ ) concluyendo que es el resultado de una alta conectividad entre las poblaciones. Por lo tanto, estos indicadores sugieren una baja conectividad entre los grupos norte y sur de la RBSGG. Además, las diferencias genéticas encontradas, junto con su asociación significativa con la altitud y tipos de vegetación, pueden indicar baja permeabilidad y, en conjunto, constituir un efecto de barrera (Coulon et al. 2006). En este sentido, se propone que el borde genético identificado en esta investigación limita la conectividad debido a la suma de varios atributos del paisaje que restringen la dispersión de los individuos.

Otros estudios han documentado asociaciones entre atributos naturales del paisaje con la dispersión y conectividad genética en ungulados (Coulon et al., 2006; Long et al., 2010), atributos que pueden considerarse un tipo de barrera perceptual. Las barreras perceptuales corresponden a elementos del paisaje percibidos como factores de riesgo, aunque no representen obstáculos físicos directos, generan respuestas de evitación que influyen en el comportamiento, distribución y uso del espacio (Gaynor et al., 2019). Estas respuestas de evitación surgen ante estímulos que provocan aversión o desconfianza como la presencia de luces en áreas urbanizadas (Bonnot et al., 2015; Ciach & Fröhlich, 2019) o cambios abruptos en el paisaje (Benítez-López et al., 2010) particularmente en especies presa debido al riesgo de depredación (Gaynor et al., 2019). Dado que los ungulados tienden a seleccionar microhábitats evitando áreas abiertas debido a que son más visibles para sus depredadores (Gaynor et al., 2019; Kamaru et al., 2024; Laundré et al., 2001; Padié et al., 2015). En el caso de la zona sur de la RBSGG, los venados podrían estar evitando hábitats erosionados con vegetación abierta o escasa, donde son más vulnerables a los depredadores. Este comportamiento de evitación podría explicar por qué algunos individuos se dispersan a través del borde detectado mientras otros no, debido a la percepción de mayor riesgo en estos parches de hábitat.

Por otro lado, otras variables como las antropogénicas, las categorías de calidad del hábitat (según el IIH) y los grupos norte y sur, no mostraron significancia estadística en la prueba de AMOVA para diferenciación genética entre grupos. Distinto a lo encontrado en esta investigación, estudios en paisajes heterogéneos urbanizados o fragmentados sí reportan efectos significativos de factores antrópicos, además de los naturales y ecológicos, como limitante del flujo génico a escala espacial fina y amplia (Blanchong et al., 2008; Fraser et al.,

2019; Locher et al., 2015; Long et al., 2005, 2010; Robinson et al., 2012a). Las discrepancias entre los estudios pueden deberse a la resolución de los marcadores utilizados, puesto que todos los anteriores usaron microsatélites. En este sentido, no se descarta que variables ecológicas o antrópicas puedan ser un factor importante en el flujo génico, dado que el ADN mitocondrial se asocia mayormente con factores paisajísticos de amplia escala geográfica (Rogers et al., 2011) e histórica (Serna, 2016).

Por lo anterior, se sugiere que la diferenciación genética observada entre los tipos de vegetación y la altitud (Tabla 4) podría ser resultado de un flujo génico histórico asociado a la historia filogeográfica de la especie. En este contexto, Serna (2016) menciona que la migración del venado cola blanca ha ocurrido de norte a sur en México, reportando variaciones en el flujo génico entre subespecies. Asimismo, es probable que la diferenciación genética detectada se deba a migraciones históricas y al posterior mantenimiento de bajos niveles de flujo génico entre demes debido a la barrera identificada en la RBSGG, en lugar de adaptaciones ecológicas como las sugeridas por Mandujano et al. (2010). Aunque aún no se ha determinado si la estructura genética de la población responde al flujo génico, influenciado por elementos del paisaje, adaptaciones locales u otros procesos microevolutivos, los resultados sugieren que la distribución de los grupos norte y sur identificados en este estudio coincide con la de dos subespecies o grupos de poblaciones locales que pertenecen a diferentes ecorregiones.

Finalmente, la clasificación por ecorregiones propuesta por Mandujano et al. (2010) se basó en el análisis morfométrico de poblaciones a gran escala espacial y su asociación con diferentes tipos de vegetación, un aspecto que se complementa con la diferenciación genética identificada a nivel local en este estudio. De acuerdo con estos resultados, una clasificación adecuada para los demes genéticamente diferenciados sería la de «Unidades de Manejo», definidas como “poblaciones con divergencias significativas en las frecuencias alélicas de loci nucleares o mitocondriales, independientemente de la distinción filogenética de sus alelos” y que alude a la estructura poblacional actual, las frecuencias alélicas y cuestiones de manejo a corto plazo (Moritz, 1994). Aunque las divergencias genéticas posiblemente asociadas a la vegetación y altitud no deben considerarse determinísticas basándose únicamente en los resultados de este estudio, estos hallazgos subrayan la necesidad de generar nuevas evidencias que permitan identificar elementos paisajísticos clave para la conectividad genética del venado cola blanca, así como implementar el monitoreo a largo plazo de estos demes y desarrollar planes de conservación específicos para la RBSGG.

## 9. CONCLUSIONES

La RBSGG cuenta con la capacidad de sostener una población de venado cola blanca a largo plazo debido a la superficie de hábitat de calidad y alta conectividad. Sin embargo, la parte norte de la RBSGG, -en su mayoría la zona de amortiguamiento-, es la que posee estas cualidades. El tamaño efectivo poblacional parece ser suficiente para mitigar la depresión por endogamia, pero tomar medidas que favorezcan la persistencia del venado cola blanca, como el mejoramiento de las condiciones del hábitat y conservación del acervo genético especialmente en la región sur, podrían ayudar a evitar el decline en la adecuación y pérdida de diversidad. No obstante, el conjunto de varios atributos paisajísticos al parecer crea una barrera que impide parcialmente la dispersión de individuos segregando a la población en dos grupos. Los efectos de la limitada dispersión entre grupos parecen influir en las bajas frecuencias de registros en la zona sur de la reserva, en los niveles de diversidad genética, y diferenciación genética entre grupos.

Entre los grupos identificados, el del norte podría contar con mayor potencial para amortiguar la erosión genética debido a las condiciones de hábitat para sostener tamaños poblacionales grandes. Además, este grupo podría considerarse óptimo para esquemas de manejo bajo las regulaciones legales y requerimientos de hábitat pertinentes para la especie dados sus valores más altos de diversidad genética. En cambio, la situación del grupo sur es preocupante, debido a su baja diversidad genética y su distribución hacia los sitios de menor calidad y conectividad del hábitat. Adicionalmente, este grupo está cerca de áreas con alta densidad humana y actividad antropogénica, incluyendo caminos, carreteras pavimentadas, localidades densamente pobladas y el basurero municipal en el límite sur del polígono de la RBSGG. Cabe destacar que las sugerencias anteriores son provisionales y deberían tomarse con precaución hasta corroborar los resultados aquí obtenidos con un mayor número de muestra para ambos grupos (en especial el del sur) y análisis de la estructura poblacional con marcadores moleculares de ADN nuclear.

Puesto que la evidencia apunta a que en la zona sur de la RBSGG hay zonas de baja calidad del hábitat producto de mayores densidades humanas, caminos, carreteras y de los efectos de degradación del hábitat por actividad minera (Pérez Vega et al., 2016) el grupo del sur debería ser considerado en esfuerzos de conservación de tipo intensivo, monitoreo de la diversidad genética y en la restauración del hábitat, en especial para los sitios donde hubo actividad minera. Estas acciones beneficiarían la calidad del hábitat no solo para el venado cola

blanca sino también en depredadores tope y mamíferos de alta movilidad como el puma (Pérez Vega et al., 2016) y jaguar (Ceballos et al., 2018). Adicionalmente, una alternativa para evitar la pérdida acelerada de la diversidad genética puede ser la creación de Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) con fines de reintroducción siempre y cuando haya compatibilidad con individuos de la misma ecorregión de origen.

En este contexto, puesto que la evidencia apunta a que los grupos podrían pertenecer a dos subpoblaciones de ecorregiones diferentes (según Mandujano et al. 2010) y aún se desconoce la estructura genética según marcadores nucleares, es importante evitar la translocación de individuos entre grupos y considerar investigaciones a escala más amplia para identificar la correspondencia de los haplotipos con otros grupos de poblaciones adyacentes. En este sentido, también se sugieren más estudios a nivel regional para el venado cola blanca y en general de mamíferos prioritarios, por ejemplo, bajo el marco del Corredor Biocultural del Centro Occidente de México (Cruz Angón et al., 2020) o de los Corredores biológicos y áreas prioritarias para la conservación del jaguar en México (Ceballos et al., 2018) que incluye a la RBSGG, otras zonas de importancia biológica buscando la conservación de diferentes ecosistemas y la conectividad entre estos. Estudios a otras escalas geográficas permitirían entender mejor la conectividad de la RBSGG como un importante corredor biológico en el centro del país.

Finalmente, algunas interrogantes quedan sin resolver debido a los alcances y limitaciones de esta investigación. Entre estas se incluyen: la conectividad del paisaje entre Áreas Naturales Protegidas (ANP) adyacentes a la RBSGG, la variación genética nuclear, el tamaño de muestra, los ajustes de los modelos de calidad del hábitat y conectividad en función del flujo génico con marcadores nucleares, así como otras evidencias como la demografía de los grupos norte y sur. Además, es importante que la conectividad funcional del venado cola blanca sea evaluada a escala regional, dada la zona de contacto de dos subpoblaciones encontrada en este trabajo. Por último, es relevante evaluar la conectividad para otras especies de alta y baja movilidad prioritarias para la conservación, que permita identificar el impacto de la barrera aquí encontrada en procesos microevolutivos.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriaensen, F., Chardon, J. P., De Blust, G., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., & Matthysen, E. (2003). The application of “least-cost” modelling as a functional landscape model. *Landscape and Urban Planning*, 64(4), 233–247. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(02\)00242-6](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(02)00242-6)
- Ambriz, M. P. (2010). *Evolución del polimorfismo mitocondrial en subespecies de venado cola blanca Odocoileus virginianus del estado de Michoacán, México* [Licenciatura]. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Ambriz-Morales, P., De La Rosa-Reyna, X. F., Sifuentes-Rincon, A. M., Parra-Bracamonte, G. M., Villa-Melchor, A., Chassin-Noria, O., & Arellano-Vera, W. (2015). The complete mitochondrial genomes of nine white-tailed deer subspecies and their genomic differences. *Journal of Mammalogy*, 97(1), 234–245. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv172>
- Aranda, M. J. (2012). *Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México* (M. J. Aranda S, Ed.; 1a ed.). CONABIO.
- Arenas B, P. (2011). *El fotoperiodo y su relación con la reproducción del venado cola blanca (Odocoileus virginianus miquihuanensis) en el Altiplano Potosino*.
- Auffret, A. G., Plue, J., & Cousins, S. A. O. (2015). The spatial and temporal components of functional connectivity in fragmented landscapes. *Ambio*, 44(1). <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0588-6>
- Avey, J. T., Ballard, W. B., Wallace, M. C., Humphrey, M. H., Krausman, P. R., Harwell, F., & Fish, E. B. (2003). Habitat relationships between sympatric mule deer and white-tailed deer in Texas. *Southwestern Naturalist*, 48(4), 644–653. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2003\)048<0644:HRBSMD>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2003)048<0644:HRBSMD>2.0.CO;2)
- Ávila-Coria, R., Villavicencio-García, R., Guerrero-Vázquez, S., & Treviño-Garza, E. (2019). Conectividad del paisaje y corredores de hábitat para el ocelote y venado cola blanca en el Occidente de México. *Revista del Desarrollo Urbano y Sustentable*, 5(17), 38–52.
- Barbosa, A. C., Do Egito, A. A., Peripolli, V., & McManus, C. M. (2022). Bovine landscape genetics in brazil. *Scientia Agricola*, 79(1), 1–8. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2020-0142>
- Beier, P., Majka, D. R., & Spencer, W. D. (2008). Forks in the road: Choices in procedures for designing wildland linkages. En *Conservation Biology* (Vol. 22, Número 4, pp. 836–851). <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00942.x>
- Benítez-López, A., Alkemade, R., & Verweij, P. A. (2010). The impacts of roads and other infrastructure on mammal and bird populations: A meta-analysis. En *Biological Conservation* (Vol. 143, Número 6, pp. 1307–1316). <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.02.009>
- Bérubé, M., & Palsboll, P. (1996). Identification of sex in Cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology*, 5(2), 283–287. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1996.00072.x>
- Blanchong, J. A., Samuel, M. D., Scribner, K. T., Weckworth, B. V., Langenberg, J. A., & Filcek, K. B. (2008). Landscape genetics and the spatial distribution of chronic wasting disease. *Biology Letters*, 4(1), 130–133. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0523>

- Bonnot, N., Verheyden, H., Blanchard, P., Cote, J., Debeffe, L., Cargnelutti, B., Klein, F., Hewison, A. J. M., & Morellet, N. (2015). Interindividual variability in habitat use: Evidence for a risk management syndrome in roe deer? *Behavioral Ecology*, 26(1), 105–114. <https://doi.org/10.1093/beheco/aru169>
- Burkart, S., Gugerli, F., Senn, J., Kuehn, R., & Bolliger, J. (2016). Evaluating the functionality of expert-assessed wildlife corridors with genetic data from roe deer. *Basic and Applied Ecology*, 17(1), 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2015.09.001>
- Castilho, C. S., Hackbart, V. C. S., Pivello, V. R., & Dos Santos R. F. (2015). Evaluating Landscape Connectivity for Puma concolor Among Atlantic Forest Protected Areas. *Environmental Management*, 55, 1137–1389.
- Ceballos, G. (2005). Orden Artiodactyla. En G. Ceballos & G. Oliva (Eds.), *Los mamíferos silvestres de México* (1a ed., pp. 500–527). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Fondo de Cultura Económica (FCE).
- Ceballos, G., Zarza, H., Cerecedo-Palacios, G., Iazcano B., M., Huerta, M., De la torre, A., Rubio, Y., & Job, J. (2018). *Corredores biológicos y áreas prioritarias para la conservación del jaguar en México*.
- Ciach, M., & Fröhlich, A. (2019). Ungulates in the city: light pollution and open habitats predict the probability of roe deer occurring in an urban environment. *Urban Ecosystems*, 22(3), 513–523. <https://doi.org/10.1007/s11252-019-00840-2>
- Cole, J. A., & Smith, R. L. (1983). Habitat suitability indices for monitoring wildlife populations evaluation. *Transactions of the North American Wildlife and Natural Resources Conference*, 48, 367–375.
- Correa-Ayram, C. A., Mendoza, M. E., & López Granados, E. (2014). Análisis del cambio en la conectividad estructural del paisaje (1975–2008) de la cuenca del lago Cuitzeo, Michoacán, México. *Revista de Geografía Norte Grande*, 59, 7–23.
- Coulon, A., Guillot, G., Cosson, J. F., Angibault, J. M. A., Aulagnier, S., Cargnelutti, B., Galan, M., & Hewison, A. J. M. (2006). Genetic structure is influenced by landscape features: Empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology*, 15(6), 1669–1679. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02861.x>
- Crawford, J. C., Dechen Quinn, A., Williams, D. M., Rudolph, B. A., Scribner, K. T., & Porter, W. F. (2018). Fine-scale spatial genetic structure of deer in a suburban landscape. *Journal of Wildlife Management*, 82(3), 596–607. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21417>
- Crompton, O., Katul, G., Lapides, D. A., & Thompson, S. E. (2023). Bridging structural and functional hydrological connectivity in dryland ecosystems. *Catena*, 231. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2023.107322>
- Cruz Angón, A., Janet Solís Jerónimo, S., Daniela Melgarejo, E., Rodríguez Reynaga, F., Cabrera Aguirre, G., Ordorica Hermosillo, A., Guzmán González, D., Carmen Gómez Lozano, S., Edgar Camacho Castillo, S., Humberto Gabriel Reyes Gómez, G. M., México C, R. A., Amalia Marín Rosales Edgar Camacho-Castillo, E., & Edgar Camacho-Castillo, S. (2020). *Corredor Biocultural del Centro Occidente de México*. <http://www.conabio.gob.mx>.
- Darriba, D., Taboada, G., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772.

- De La Rosa-Reyna, X. F., Caldern-Lobato, R. D., Parra-Bracamonte, G. M., Sifuentes-Rincón, A. M., Deyoung, R. W., García-De Len, F. J., & Arellano-Vera, W. (2012). Genetic diversity and structure among subspecies of white-tailed deer in Mexico. *Journal of Mammalogy*, 93(4), 1158–1168. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-A-212.2>
- Delfín-Alfonso, C. A., Gallina, S., & López-González, C. A. (2009). Evaluación del hábitat del venado cola blanca utilizando modelos espaciales y sus implicaciones para el manejo en el centro de Veracruz, México. *Tropical Conservation Science*, 2(2), 215–228. [www.tropicalconservationscience.org](http://www.tropicalconservationscience.org)
- Delfín-Alfonso, C. A., Gallina, S., & López-González, C. A. (2014). Modelos de Idoneidad del hábitat (HSI) para el venado cola blanca. En S. A. Gallina Tessaro, S. Mandujano Rodríguez, & O. A. Villarreal Espino-Barros (Eds.), *Monitoreo y manejo del Venado cola blanca, Conceptos y métodos* (pp. 121–136). Instituto de Ecología A. C.
- Diniz-Filho, J. A., Soares, T. N., Lima, J. S., Dobrovolski, R., Landeiro, V. L., de Campos Telles, M. P., & Rangel, T. F. (2013). Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology*, 36(4), 475–485.
- Drake, J., Lambin, X., & Sutherland, C. (2022). The value of considering demographic contributions to connectivity: a review. En *Ecography* (Vol. 2022, Número 6). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/ecog.05552>
- Dray, S., & Dufour, A. (2007a). The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20.
- Dray, S., & Dufour, A. (2007b). The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479–491.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6), 368–376.
- Feng, H., Li, Y., Li, Y. Y., Li, N., Li, Y., Hu, Y., Yu, J., & Luo, H. (2021). Identifying and evaluating the ecological network of Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) in Tieli Forestry Bureau, northeast China. *Global Ecology and Conservation*, 26. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01477>
- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37(12), 4302–4315.
- Fieberg, J., Kuehn, D. W., & DelGiudice, G. D. (2008). Understanding variation in autumn migration of Northern White-tailed deer by long-term study. *Journal of Mammalogy*, 89(6), 1529–1539.
- Fraser, D. L., Ironside, K., Wayne, R. K., & Boydston, E. E. (2019). Connectivity of mule deer (*Odocoileus hemionus*) populations in a highly fragmented urban landscape. *Landscape Ecology*, 34(5), 1097–1115. <https://doi.org/10.1007/s10980-019-00824-9>
- Gallina, S., & López, H. A. (2016). *Odocoileus virginianus*, White-tailed Deer. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016>
- Gallina, S., Mandujano, S., Bello, J., López Arévalo, H. F., & Weber, M. (2010). *Neotropical cervidology : Biology and Medicine of Latin American Deer* (J. M. Barbanti Duarte & S. González, Eds.; pp. 101–118). Funep / IUCN.

- Gallina, S., Mandujano, S., & Villarreal, O. (2014). Modelos de idoneidad del hábitat (HSI) para el venado cola blanca. En *Monitoreo y manejo del venado cola blanca "Conceptos y métodos"* (pp. 121–136).
- Ganz, T. R., DeVivo, M. T., Wirsing, A. J., Bassing, S. B., Kertson, B. N., Walker, S. L., & Prugh, L. R. (2024). Cougars, wolves, and humans drive a dynamic landscape of fear for elk. *Ecology*, 105(4). <https://doi.org/10.1002/ecy.4255>
- Garrido-Garduño, T., & Vázquez-Domínguez, E. (2013). Métodos de análisis genéticos, espaciales y de conectividad en genética del paisaje. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3), 1031–1054. <https://doi.org/10.7550/rmb.32500>
- Gaynor, K. M., Brown, J. S., Middleton, A. D., Power, M. E., & Brashares, J. S. (2019). Landscapes of Fear: Spatial Patterns of Risk Perception and Response. En *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 34, Número 4, pp. 355–368). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.01.004>
- Godínez-Gómez, O., & Correa-Ayram, C. (2020). *connectscapeMakurhini: Analyzing landscape connectivity* (1.0.0). Zenodo.
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696–704.
- Hajibabaei, M., Smith, M. A., Janzen, D. H., Rodriguez, J. J., Whitfield, J. B., & Hebert, P. D. N. (2006). A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes*, 6(4), 959–964. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01470.x>
- Hernández, J. R. S., Pérez, J. L. D., Rosete, F. V., Villalobos, M. D., Méndez, A. P. L., & Navarro, E. S. (2017). Clasificación geomorfométrica del relieve mexicano: una aproximación morfográfica por densidad de curvas de nivel y la energía del relieve. *Investigaciones Geográficas*, 94.
- Hernández-Llamas, A. R. (2014). *Variabilidad genética y relación filogeográfica de tres subespecies de venado cola blanca (Odocoileus virginianus) en la región Centro-Norte de México* [Tesis de Maestría]. Colegio de Postgraduados.
- Hoban, S., Paz-Vinas, I., Aitken, S., Bertola, L. D., Breed, M. F., Bruford, M. W., Funk, W. C., Grueber, C. E., Heuertz, M., Hohenlohe, P., Hunter, M. E., Jaffé, R., Fernandes, M. L., Mergeay, J., Moharrek, F., O'Brien, D., Segelbacher, G., Vernesi, C., Waits, L., & Laikre, L. (2021). Effective population size remains a suitable, pragmatic indicator of genetic diversity for all species, including forest trees. En *Biological Conservation* (Vol. 253). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108906>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2017a). *Conjunto de datos vectoriales de Uso del suelo y vegetación. Escala 1:250 000. Serie VI*. <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=889463598459>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2017b). *Continuo de Elevaciones Mexicano (CEM) 3.0*. <https://www.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex/#:~:text=En%20tal%20sentido%2C%20en%20el,confiable%20para%20apoyar%20diversas%20tarear>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2021a). *Continuo Nacional de las 5 Capas Actualizadas de Información Topográfica a Escala 1:50 000 Serie III 2013-2018*. <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=889463835585>.

- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2021b, marzo). *Censo de Población y Vivienda 2020*. <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/>.
- IUCN. (2016, septiembre 4). *The IUCN Red List of Threatened Species*. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- Jayasankar, P., Anoop, B., & Rajagopalan, M. (2008). PCR-based sex determination of cetaceans and dugong from the Indian seas. *Current Science*, 94(11), 1513–1516.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405.
- Kamaru, D. N., Palmer, T. M., Riginos, C., Ford, A. T., Belnap, J., Chira, R. M., Githaiga, J. M., Gituku, B. C., Hays, B. R., Kavwele, C. M., Kibungei, A. K., Lamb, C. T., Maiyo, N. J., Milligan, P. D., Mutisya, S., Ng'weno, C. C., Ogutu, M., Pietrek, A. G., Wildt, B. T., & Goheen, J. R. (2024). *Disruption of an ant-plant mutualism shapes interactions between lions and their primary prey*. <https://www.science.org>
- Kamvar, Z., Tabima, J., & Grünwald, N. (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. . *PeerJ*, 2(e281).
- Keeley, A. T. H., Beier, P., & Gagnon, J. W. (2016). Estimating landscape resistance from habitat suitability: effects of data source and nonlinearities. *Landscape Ecology*, 31(9), 2151–2162. <https://doi.org/10.1007/s10980-016-0387-5>
- Kie, J. G., & Terry Bowyer, R. (1999). SEXUAL SEGREGATION IN WHITE-TAILED DEER: DENSITY-DEPENDENT CHANGES IN USE OF SPACE, HABITAT SELECTION, AND DIETARY NICHE. En *Journal of Mammalogy* (Vol. 80, Número 3). Main and Coblentz. <https://academic.oup.com/jmammal/article/80/3/1004/993613>
- Korkmaz, S., Goksuluk, D., & Zararsiz, G. (2014). MVN: An R Package for Assessing Multivariate Normality. *The R Journal*, 6(2), 151–162.
- Korstian, J. M., Hale, A. M., & Williams, D. A. (2015). Genetic Diversity, Historic Population Size, and Population Structure in 2 North American Tree Bats. *Journal of Mammalogy*, 96(5), 972–980. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv101>
- Kuehn, R., Hindenlang, K. E., Holzgang, O., Senn, J., Stoeckle, B., & Sperisen, C. (2007). Genetic effect of transportation infrastructure on roe deer populations (*Capreolus capreolus*). *Journal of Heredity*, 98(1), 13–22. <https://doi.org/10.1093/jhered/esl056>
- Latch, E. K., Heffelfinger, J. R., Fike, J. A., & Rhodes, O. E. (2009). Species-wide phylogeography of North American mule deer (*Odocoileus hemionus*): Cryptic glacial refugia and postglacial recolonization. *Molecular Ecology*, 18(8), 1730–1745. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04153.x>
- Latch, E. K., Reding, D. M., Heffelfinger, J. R., Alcalá-Galván, C. H., & Rhodes, O. E. (2014). Range-wide analysis of genetic structure in a widespread, highly mobile species (*Odocoileus hemionus*) reveals the importance of historical biogeography. *Molecular Ecology*, 23(13), 3171–3190. <https://doi.org/10.1111/mec.12803>
- Laundré, J. W., Hernández, L., & Altendorf, K. B. (2001). Wolves, elk, and bison: reestablishing the “landscape of fear” in Yellowstone National Park, U.S.A. *Canadian Journal of Zoology*, 79(8), 1401–1409. <https://doi.org/10.1139/cjz-79-8-1401>
- Lenin, M., Aguilar, J. M. L., Krüger, P., Chávez, I., Rosadio, R., & Wheeler, J. C. (2012). Optimización de una técnica para la extracción de ADN de heces de vicuña (*Vicugna vicugna mensalis*). . *Rev. Int. Vet. Perú*, 23(3), 369–376.

- Locher, A., Scribner, K. T., Moore, J. A., Murphy, B., & Kanefsky, J. (2015). Influence of landscape features on spatial genetic structure of white-tailed deer in human-altered landscapes. *Journal of Wildlife Management*, 79(2), 180–194.  
<https://doi.org/10.1002/jwmg.826>
- Logan López, M., Rivas, C., Rincón, S., Paz, G., Sánchez, C., Martínez, M., & Arámbula, T. (2007). *Redalyc.Patrones de variación genética en cuatro subespecies de venado cola blanca del noreste de México*. 41, 13–21.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30241102>
- Long, E. S., Diefenbach, D. R., Rosenberry, C. S., Wallingford, B. D., & Grund, M. D. (2005). Forest Cover Influences Dispersal Distance of White-Tailed Deer. En *Source: Journal of Mammalogy* (Vol. 86, Número 3).
- Long, E. S., Diefenbach, D. R., Wallingford, B. D., & Rosenberry, C. S. (2010). Influence of Roads, Rivers, and Mountains on Natal Dispersal of White-Tailed Deer. *Journal of Wildlife Management*, 74(6), 1242–1249. <https://doi.org/10.2193/2009-096>
- Luque, S., Saura, S., & Fortin, M. J. (2012). Landscape connectivity analysis for conservation: Insights from combining new methods with ecological and genetic data. En *Landscape Ecology* (Vol. 27, Número 2, pp. 153–157).  
<https://doi.org/10.1007/s10980-011-9700-5>
- Mandujano, S. (2004). Análisis bibliográfico de los estudios de venados en México. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*, 20(1), 211–251.
- Mandujano, S., Delfin-Alfonso, C. A., & Gallina, S. (2014). Ecoregiones y manejo de subespecies del venado cola blanca. En S. Gallina, S. Mandujano, & O. A. Villareal Espino-Barros (Eds.), *Monitoreo y manejo del venado cola blanca: Conceptos y métodos* (pp. 173–178). Instituto de Ecología A. C. y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Mandujano, S., Delfin-Alfonso, C. A., Gallina, S., Jáuregui, R., & de Querétaro, S. (2010). *Comparison of geographic distribution models of white-tailed deer Odocoileus virginianus (Zimmermann, 1780) subspecies in Mexico: biological and management implications* (Vol. 1, Número 1). [www.mastozoologiamexicana.org](http://www.mastozoologiamexicana.org)
- Mandujano, S., & González-Zamora, A. (2009). Evaluation of Natural Conservation Areas and Wildlife Management Units to Support Minimum Viable Populations of White-Tailed Deer in Mexico. *Tropical Conservation Science*, 2(2), 237–250.  
<https://doi.org/10.1177/194008290900200210>
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 209–220.
- Mariaca-Rodríguez, L., Genescá-Llongueras, J., Uruchurtu-Chavarin, J., & Hernández, L. S. (1999). *Corrosividad Atmosférica (MICAT-México)* (L. Mariaca R, J. Genescá L, J. Uruchurtu C, & L. S. Hernández, Eds.; 1a ed.). Plaza y Valdés S.A. de C. V.
- Márquez, L. M., Serrato, A., & Cerritos, R. (2014). *Secuenciación de fragmentos de ADN* (A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendón, & M. Rocha, Eds.; 1a ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), y Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I).  
<https://www.researchgate.net/publication/296695965>

- McRae, B. H., Dickson, B. G., Keitt, T. H., & Shah, V. B. (2008). Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution, and conservation. *Ecology*, 89(10), 2712–2724. <https://doi.org/10.1890/07-1861.1>
- McRae, B. H., & Kavanagh, D. M. (2011). *Linkage Mapper Connectivity Analysis Software* (3.0). The Nature Conservancy.
- Medina-Torres, S. M., García, E. M., Márquez, M. O., Vaquera, H. H., Romero, A. M., & Martínez, M. M. (2008). Factores que influyen en el uso del hábitat por el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus couesi*) en Sierra del Laurel, Aguascalientes, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 24(3), 191–212.
- Menchaca, A., Rossi, N., Froidevaux, J., Dias-Freedman, I., Caragiulo, A., Wultsch, C., Harmsen, R., Foster, R., De la Torre, J. A., Medellín, R. A., Rabinowitz, S., & Amato, G. (2019). Population genetic structure and habitat connectivity for jaguar (*Panthera onca*) conservation in Central Belize. *Genetics*, 20, 100–113.
- Merino, M. L., & Vieira, R. (2010). Origin, Systematics, and Morphological Radiation. En J. M. Barbanti D. & S. González (Eds.), *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latine American Deer* (pp. 3–11). FUNEP / IUCN.
- Molina, G. V. M. (2002). *Diferenciación genética de poblaciones de venado cola blanca (Odocoileus virginianus)* [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Morand, S., & Krasnov, B. R. (2010). *The biogeography of Host-Parasite Interactions*. . Oxford University Press.
- Moritz, C. (1994). Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, 3, 401–411.
- Norden, E. (2016). *Comparison between three landscape analysis tools to aid conservation efforts* [Tesis de Maestría]. Lund University.
- Ortega, J., & Maldonado, J. E. (2020). *Conservation Genetics in Mammals Integrative Research Using Novel Approaches*.
- Padié, S., Morellet, N., Hewison, A. J. M., Martin, J. L., Bonnot, N., Cargnelutti, B., & Chamaillé-Jammes, S. (2015). Roe deer at risk: Teasing apart habitat selection and landscape constraints in risk exposure at multiple scales. *Oikos*, 124(11), 1536–1546. <https://doi.org/10.1111/oik.02115>
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35, 526–528.
- Patten, M. A., & Smith-Patten, B. D. (2008). Biogeographical boundaries and Monmonier's algorithm: A case study in the northern Neotropics. *Journal of Biogeography*, 35(3), 407–416. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01831.x>
- Pease, K. M., Freedman, A. H., Pollinger, J. P., McCormack, J. E., Buermann, W., Rodzen, J., Banks, J., Meredith, E., Bleich, V. C., Schaefer, R. J., Jones, K., & Wayne, R. K. (2009). Landscape genetics of California mule deer (*Odocoileus hemionus*): The roles of ecological and historical factors in generating differentiation. *Molecular Ecology*, 18(9), 1848–1862. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04112.x>
- Pérez Gutiérrez, O. (2014). *Patrones de secreción de progesterona, estrógenos y testosterona en venado cola blanca veracruzano (Odocoileus virginianus veraecrucis) durante un ciclo anual en la zona centro del estado de Veracruz* [Tesis de Maestría]. Universidad Veracruzana.

- Pérez-Vega, A., García, H. H. R., & Mas, J. F. (2020). Environmental degradation from land-cover and use change processes from a spatial perspective in the state of Guanajuato, Mexico. *Investigaciones Geograficas*, 103. <https://doi.org/10.14350/RIG.60150>
- Pérez-Vega, A., Regil, H., Boni, A., Farfán, M., Rocha, F., & Magaña-Cota, G. (2016). Valoración de la subzonificación del plan de manejo en la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda Guanajuato. *Acta Universitaria*, 26, 45–61. <https://doi.org/10.15174/au.2016.1538>
- Portanier, E., Larroque, J., Garel, M., Marchand, P., Maillard, D., Bourgoïn, G., & Devillard, S. (2018). Landscape genetics matches with behavioral ecology and brings new insight on the functional connectivity in Mediterranean mouflon. *Landscape Ecology*, 33(7), 1069–1085. <https://doi.org/10.1007/s10980-018-0650-z>
- Ramos-Robles, M., Gallina, S., & Mandujano, S. (2013). Habitat and human factors associated with white-tailed deer density in the tropical dry forest of Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve, Mexico. *Tropical Conservation Science*, 6(1), 70–86. [www.tropicalconservationscience.org](http://www.tropicalconservationscience.org)
- Restrepo, L. C. C. (2010). *Estandarización y optimización de los protocolos para la extracción de ADN y amplificación de fragmentos de ADN mitocondrial, a partir de heces de ocelote (Leopardus pardalis)* [Tesis de Licenciatura]. Pontificia Universidad Javeriana.
- Ribeiro, R., Carretero, M. A., Sillero, N., Alarcos, G., Ortiz-Santaliestra, M., Lizana, M., & Llorente, G. A. (2011). The pond network: Can structural connectivity reflect on (amphibian) biodiversity patterns? *Landscape Ecology*, 26(5), 673–682. <https://doi.org/10.1007/s10980-011-9592-4>
- Ripley, B. D. (1996). *Pattern Recognition and Neural Networks*. Cambridge University Press.
- Risser, P. G., Karr, J. R., & Forman, R. T. T. (1984). *Landscape ecology : directions and approaches : a workshop held at Allerton Park, Piatt County, Illinois, April 1983*. Champaign, Ill, Illinois Natural History Survey.
- Robinson, S. J., Samuel, M. D., Lopez, D. L., & Shelton, P. (2012a). The walk is never random: Subtle landscape effects shape gene flow in a continuous white-tailed deer population in the Midwestern United States. *Molecular Ecology*, 21(17), 4190–4205. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05681.x>
- Robinson, S. J., Samuel, M. D., Lopez, D. L., & Shelton, P. (2012b). The walk is never random: Subtle landscape effects shape gene flow in a continuous white-tailed deer population in the Midwestern United States. *Molecular Ecology*, 21(17), 4190–4205. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05681.x>
- Rogers, K. G., Robinson, S. J., Samuel, M. D., & Gear, D. A. (2011). Diversity and distribution of white-tailed deer mtDNA lineages in chronic wasting disease (cWD) outbreak areas in southern Wisconsin, USA. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 74(22–24), 1521–1535. <https://doi.org/10.1080/15287394.2011.618980>
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 34, 3299–3302.

- Salom-Pérez, R., Carrillo, E., Sáenz, J. C., & Mora, J. M. (2007). Salom-Pérez R., E. Carrillo, J. Critical condition of the jaguar *Panthera onca* population in Corcovado National Park, Costa Rica. *Oryx*, 41(1), 51–56.
- Sánchez, Ó. (2014). Sinopsis de los mamíferos silvestres del estado de Guanajuato, México, y comentarios sobre su conservación. *Therya*, 5(2), 369–422.  
<https://doi.org/10.12933/therya-14-188>
- Sánchez, Ó., Charre-Medellín, J. F., Téllez-Girón, G., Báez-Montes, Ó., & Magaña-Cota, G. (2016). Mamíferos Silvestres de Guanajuato, México: actualización taxonómica y un diagnóstico de conservación. En M. Briones-Salas, Y. Hortelano-Moncada, G. Magaña-Cota, G. Sánchez-Rojas, & E. Sosa-Escalante (Eds.), *Riqueza y Conservación de los Mamíferos en México a Nivel Estatal* (pp. 243–280). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Asociación Mexicana de Mastozoología A. C. y Universidad de Guanajuato.
- Sánchez-Rojas, G., Aguilar-Miguel, C., & Hernández-Cid, E. (2009). Estudio poblacional y uso de hábitat por el Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*) en un bosque templado de la Sierra de Pachuca, Hidalgo, México. *Tropical Conservation Science*, 2(2), 204–214. [www.tropicalconservationscience.org](http://www.tropicalconservationscience.org)
- Schwartz, M. K., & McKelvey, K. S. (2009). Why sampling scheme matters: The effect of sampling scheme on landscape genetic results. *Conservation Genetics*, 10(2), 441–452.  
<https://doi.org/10.1007/s10592-008-9622-1>
- Schweizer, R. M., Durvasula, A., Smith, J., Vohr, S. H., Stahler, D. R., Galaverni, M., Thalmann, O., Smith, D. W., Randi, E., Ostrander, E. A., Green, R. E., Lohmueller, K. E., Novembre, J., & Wayne, R. K. (2018). Natural selection and origin of a melanistic allele in North American Gray Wolves. *Molecular Biology and Evolution*, 35(5), 1190–1209. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy031>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2014). *Acuerdo por el que se da a conocer la lista de especies y poblaciones prioritarias para la conservación*.
- Serna, R. (2016). *Filogeografía de ocho subespecies de Odocoileus virginianus (Zimmermann, 1780) del Pacífico Mexicano* [Tesis de Doctorado]. Colegio de Postgraduados.
- Serra-Ortiz, M. A., González-Saldivar, F. N., Cantú-Ayala, C., Guevara-González, J., & Picón-Rubio, F. (2008). Evaluación del hábitat disponible para dos especies de Cérvidos en el Noroeste de México. *Revista Mexicana de Mastozoología*, 12, 43–58.
- Silva, A., & Malafaia, G. (2017). biotools: an R function to predict spatial gene diversity via an individual-based approach. *Genetics and Molecular Research*, 16.
- Silverman, B. W. (1986). *Density estimation for statistics and data analysis*. Chapman and Hall.
- Smith, W. P. (1991). *Odocoileus virginianus*. *Mammalian Species*. The American Society of Mammalogist, 388, 1–13.  
<http://www.jstor.org>URL:<http://www.jstor.org/stable/3504281>Accessed:28-05-201501:58UTC
- Tafolla, R. A. (2016). *Riqueza, abundancia y patrones de actividad de los mamíferos medianos y grandes en el municipio de Victoria, Reserva de la Biósfera de Sierra*

- Gorda, Guanajuato. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38, 3022–3027.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (2019). Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673–4680.
- Traill, L. W., Bradshaw, C. J. A., & Brook, B. W. (2007). Minimum viable population size: A meta-analysis of 30 years of published estimates. *Biological Conservation*, 139(1–2), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.011>
- Turner, M. G., & Gardner, R. H. (2015). *Landscape Ecology in Theory and Practice, Pattern and Process* (M. G. Turner & R. H. Gardner, Eds.; 2nd edition, Vol. 2). Springer.
- Vega Hernández, D. M. (2019). *Segregación, comportamiento hormonal y variabilidad genética de venado cola blanca en vida libre y encierro de la Sierra Madre Occidental de Durango* [Tesis de Doctorado]. Instituto Politécnico Nacional.
- Venables, W., & Ripley, B. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (4a ed.). Springer.
- Villavicencio, R., Avila, R., Guerrero, S., Santiago, A. L., & Treviño, E. (2017). Conectividad del hábitat forestal de las áreas protegidas para el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en el estado de Jalisco, México. *Áreas Naturales Protegidas Scripta*, 3(2), 9–31. <https://doi.org/10.18242/anpscripta.2017.03.03.02.0001>
- Watterson, G. A. (1975). On the Number of Segregating Sites in Genetical Models without Recombination. En *POPULATION BIOLOGY* (Vol. 7).
- Weih, C., Ligges, U., Luebke, K., & Raabe, N. (2005). klaR Analyzing German Business Cycles. En D. Baier, R. Decker, & L. Schmidt-Thieme (Eds.), *Data Analysis and Decision Support* (pp. 335–343). Springer-Verlag.
- Wright, S. (1969). *Evolution and the genetics of populations. The theory of gene frequencies*. (Vol. 2). University of Chicago Press.
- Wu, J. (2013). Key concepts and research topics in landscape ecology revisited: 30 years after the Allerton Park workshop. *Landscape Ecology*, 28, 1–11.
- Yañez-Arenas, C., Martínez-Meyer, E., Mandujano, S., & Rojas-Soto, O. (2012). Modelling geographic patterns of population density of the white-tailed deer in central Mexico by implementing ecological niche theory. *Oikos*, 121, 2081–2012. <https://doi.org/10.2307/41686700>
- Zamudio, S. (2012). Diversidad de ecosistemas del estado de Guanajuato. En *La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado* (Vol. 2, pp. 21–55). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE).
- Zanin, M., Sollmann, R., Torres, N. M., Furtado, M. M., & Jácomo, A. T. A. (2015). Landscapes attributes and their consequences on jaguar *Panthera onca* and cattle predation occurrence. *Eur Jour Wildl Res*, 61, 529–537.
- Zhou, Y., Yao, J., Chen, M., & Tang, M. (2023). Optimizing an Urban Green Space Ecological Network by Coupling Structural and Functional Connectivity: A Case for

Biodiversity Conservation Planning. *Sustainability (Switzerland)*, 15(22).  
<https://doi.org/10.3390/su152215818>

## 11. ANEXOS

**Anexo 1.** Antecedentes que reportan preferencias de hábitat en cérvidos y validación por medio de la ocurrencia o densidad poblacional.

| Atributo                                                                                                                                                                                                                                                       | Especie               | Tipo de asociación                                                                                                                                                               | Tipos de vegetación                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Variable poblacional evaluada            | Referencias                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|
| <p>Pendiente (entre 4% a 24% de inclinación)</p> <p>Orientación de laderas (Norte, noroeste y noreste; mayor importancia las laderas norte)</p> <p>Cobertura de protección termal (Densa, media y baja)</p> <p>Fuentes de agua</p>                             | <i>O. virginianus</i> | Se consideraron como las variables más importantes en un Índice de idoneidad del hábitat y se hizo una validación del modelo en campo para registrar la presencia de la especie. | <p>Bosques de: Oyamel, pino, pino-encino, tascate, encino, bosque mesófilo de montaña;</p> <p>Matorrales: desértico rosetófilo; Pastizales: inducidos y cultivados y pradera de alta montaña;</p> <p>Selvas: Baja caducifolia, mediana subcaducifolia, alta perennifolia; manglar y vegetación transformada.</p> | Presencia- ausencia de huellas y rastros | Delfín-Alfonso et al., 2009 |
| <p>Arquitectura de los arbustos (diámetro 1, diámetro 2 de la corona de los arbustos, cobertura y altura del arbusto)</p> <p>Arquitectura del estrato arbóreo (perímetro a la altura del pecho y altura del árbol)</p> <p>Distancias de arbustos y árboles</p> | <i>O. virginianus</i> | Correlación negativa en los tres componentes; en un análisis de ACP estos tres componentes explican el 58.6% de la variación.                                                    | Bosque de pino, bosque de encino y pastizal                                                                                                                                                                                                                                                                      | Densidad poblacional                     | Sánchez-Rojas et al., 2009  |
| <p>Área basal (Estructura de la vegetación)</p> <p>Presencia de ganado</p>                                                                                                                                                                                     | <i>O. virginianus</i> | <p>Correlación negativa</p> <p>Correlación positiva</p>                                                                                                                          | Bosque tropical seco                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Densidad poblacional                     | Ramos-Robles et al., 2013   |

|                                                                                             |                                                               |                                                                                                                                            |                                                                                                         |                                                                                     |                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Distancia a caminos                                                                         |                                                               |                                                                                                                                            |                                                                                                         |                                                                                     |                            |
| Distancia a las ciudades con mayor número de habitantes                                     |                                                               |                                                                                                                                            |                                                                                                         |                                                                                     |                            |
| Disponibilidad de agua<br>Cantidad y calidad de alimento                                    | <i>O. hemionus eremicus</i><br>y <i>O. virginianus couesi</i> | Se consideraron como las dos variables más importantes en un Índice de Disponibilidad del hábitat.                                         | Matorral Crasicaule y matorral desértico micrófilo                                                      | Densidad poblacional                                                                | Serra-Ortiz et al., 2008   |
| Tipo de vegetación<br>Pendiente                                                             | <i>O. virginianus</i>                                         | Distancia al centroide del nicho, estas dos variables contribuyen en un 60% del modelo en dos regiones.                                    | Bosque de coníferas, bosque de encino, bosque seco, agrosistemas, matorral xerófilo y bosque de niebla. | Densidad poblacional                                                                | Yañez-Arenas et al., 2012  |
| Pendiente (media 4%, Desviación estándar 5.40)<br>Porcentaje de cobertura arbustiva (53.9%) | <i>O. hemionus eremicus</i> y <i>O. virginianus texanus</i>   | La densidad arbustiva y pendiente fueron las variables más importantes para describir la preferencia de hábitat de dos especies de venado. | Matorrales mixtos                                                                                       | Patrones de uso del hábitat                                                         | Avey et al., 2003          |
| Tipo de vegetación<br>Pendiente<br>Altitud<br>Distancia al agua                             | <i>O. virginianus</i>                                         | Se usaron como variables predictoras, todas con significancia estadística.                                                                 | Bosque de encino, matorral subtropical y pastizal inducido.                                             | Probabilidad de aprovechamiento del hábitat y presencia-ausencia de grupos fecales. | Medina-Torres et al., 2008 |

**Anexo 2.** Antecedentes que reportan diversidad, diferenciación y/o estructura genética asociadas a atributos del paisaje en cérvidos.

| Atributo                                             | Especie                                                 | Tipo de asociación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Atributo genético evaluado                                                   | Referencias                                                                                            |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Presencia de cuerpos de agua (ríos, lagos o canales) | <i>O. virginianus</i><br><br><i>Capreolus capreolus</i> | La diferenciación genética fue mayor entre los grupos separados por el Río Wisconsin. La diferenciación genética fue baja pero significativa cuando se incrementó la distancia geográfica entre grupos.<br><br>A escala espacial amplia los ríos y carreteras estatales e interestatales se asocian a efectos significativos de barrera al flujo génico. | Diferenciación genética<br><br>Estructura genética<br><br>Distancia genética | Blanchong et al., 2008<br><br>Robinson et al., 2012<br><br>Coulon et al., 2006                         |
| Cobertura vegetal                                    | <i>C. capreolus</i>                                     | Se reporta una asociación significativa entre las distancias costo y la distancia genética a escala espacial fina, la correlación entre grupos está asociada con la cantidad y el arreglo de la cobertura forestal a lo largo de la infraestructura carretera.                                                                                           | Distancia genética                                                           | Coulon et al., 2006                                                                                    |
| Carreteras                                           | <i>O. virginianus</i>                                   | La diferenciación genética entre grupos fue baja pero significativa; los elementos del paisaje considerados fueron las carreteras de mayor tráfico, ríos y calidad del hábitat.                                                                                                                                                                          | Diferenciación genética                                                      | Locher et al., 2015<br><br>Kuehn et al., 2007<br><br>Fraser et al., 2019<br><br>Robinson et al., 2012b |
| Calidad del hábitat                                  | <i>O. virginianus</i>                                   | La calidad del hábitat se evaluó con un Índice de Calidad del hábitat; el hábitat de baja calidad se asoció con el Fst más bajo entre grupos, en cambio, el hábitat de calidad intermedia inhibe el flujo génico.                                                                                                                                        | Diferenciación genética                                                      | Locher et al., 2015                                                                                    |

**Anexo 3.** Localidades de colecta y número de muestras usadas para validación de modelos y para análisis genético-poblacionales.

| ID | Sitio de colecta y abreviación | Coordenadas  |          | Muestras<br>colectadas<br>en campo <sup>1</sup> | Muestras con ADN y<br>confirmación de la<br>especie por PCR con<br>marcadores SRY/ZFX <sup>2</sup> | Total de<br>muestras<br>amplificadas por<br>PCR del<br>marcador COI <sup>3</sup> |
|----|--------------------------------|--------------|----------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                | X            | Y        |                                                 |                                                                                                    |                                                                                  |
| 1  | San Antón de los Martínez (SA) | -100.43044   | 21.62226 | 6                                               | 5                                                                                                  | 5                                                                                |
| 2  | Álamos de Martínez (Ala)       | -100.15959   | 21.60296 | 27                                              | 22                                                                                                 | 5                                                                                |
| 3  | El Vergel de Bernalejo (VB)    | -100.38872   | 21.53823 | 2                                               | 1                                                                                                  | 0                                                                                |
| 4  | Rancho Viejo (RV)              | -100.15955   | 21.55961 | 7                                               | 1                                                                                                  | 1                                                                                |
| 5  | Las Tinajas (Tin)              | -100.0886    | 21.48129 | 9                                               | 2                                                                                                  | 0                                                                                |
| 6  | Rancho la Onza (ON)            | -100.1131    | 21.47397 | 17                                              | 9                                                                                                  | 5                                                                                |
| 7  | La Pila (PI)                   | -99.98274    | 21.43208 | 4                                               | 3                                                                                                  | 2                                                                                |
| 8  | El Platanal (Pla)              | -99.86196    | 21.43199 | 4                                               | 1                                                                                                  | 1                                                                                |
| 9  | El Roblar (Rob)                | -99.80943    | 21.43825 | 4                                               | 3                                                                                                  | 1                                                                                |
| 10 | El Toro (Tor)                  | -99.78778    | 21.37835 | 3                                               | 2                                                                                                  | 2                                                                                |
| 11 | El Carricillo (Car)            | -99.80869    | 21.35380 | 5                                               | 1                                                                                                  | 1                                                                                |
| 12 | Potrerillos (Pot)              | -100.20366   | 21.40936 | 2                                               | 1                                                                                                  | 1                                                                                |
| 13 | Derramaderos (Der)             | -100.14936   | 21.37621 | 11                                              | 10                                                                                                 | 3                                                                                |
| 14 | Cristo Rey (CR)                | -100.00233   | 21.36784 | 8                                               | 4                                                                                                  | 4                                                                                |
| 15 | Rancho El Milagro (Mil)        | -100.12133   | 21.25263 | 4                                               | 2                                                                                                  | 0                                                                                |
| 16 | El Piñonal (PNL)               | -99.85056    | 21.31521 | 13                                              | 9                                                                                                  | 2                                                                                |
| 17 | El Tabaco (Tab)                | -100.43622   | 21.36387 | 5                                               | 3                                                                                                  | 0                                                                                |
| 18 | Las Trancas (TRA)              | -100.28052   | 21.31333 | 4                                               | 2                                                                                                  | 0                                                                                |
| 19 | El Charco (Char)               | -99.71955    | 21.31182 | 5                                               | 4                                                                                                  | 4                                                                                |
|    |                                | <b>Total</b> |          | <b>140</b>                                      | <b>85</b>                                                                                          | <b>37</b>                                                                        |

<sup>1</sup> Estas muestras fueron identificadas en campo por medio del manual de huellas y rastros de Aranda (2012) y la confirmación del Dr. J.F. Charre Medellín. <sup>2</sup> En estas muestras fue extraído el ADN y se confirmó la identidad de la especie por medio de un alineamiento con secuencias de Genbank de los amplicones SRY/ZFX cuando fue amplificado exitosamente. <sup>3</sup> Estas muestras amplificaron con éxito el marcador mitocondrial COI además de los marcadores SRY/ZFX.

**Anexo 4.** Valores de ponderación del Índice de Idoneidad del Hábitat (Modelo de distribución potencial basado en la opinión de expertos).

| VEGETACIÓN 30% (Variable categórica) |                                                                 |                 |                                             |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------------------|
| Valor (1 a 100)                      | Categoría                                                       | Valor (1 a 100) | Categoría                                   |
| 40                                   | Vegetación secundaria herbácea de Selva Baja Caducifolia        | 100             | Pastizal Natural                            |
| 40                                   | Vegetación secundaria herbácea de Bosque de Pino-Encino         | 70              | Pastizal Inducido                           |
| 40                                   | Vegetación secundaria herbácea de Bosque de Encino-Pino         | 100             | Mezquital Xerófilo                          |
| 60                                   | Vegetación secundaria arbórea de Selva Baja Caducifolia         | 100             | Matorral Submontano                         |
| 60                                   | Vegetación secundaria arbórea de Bosque de Pino-Encino          | 100             | Matorral Crasicaule                         |
| 60                                   | Vegetación secundaria arbórea de Bosque de Encino-Pino          | 1               | Desprovisto de vegetación                   |
| 60                                   | Vegetación secundaria arbórea de Bosque de Encino               | 40              | Cuerpo de agua                              |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Selva mediana Subcaducifolia | 100             | Bosque de táscate                           |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Selva baja caducifolia       | 100             | Bosque de pino-encino                       |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Pastizal Natural             | 100             | Bosque de pino-encino                       |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Mezquital Xerófilo           | 100             | Bosque de Pino                              |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Matorral submontano          | 100             | Bosque de Encino-pino                       |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Matorral Crasicaule          | 100             | Bosque de Encino                            |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Bosque de Táscate            | 1               | Asentamientos humanos                       |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Bosque de Pino-Encino        | 70              | Agricultura de temporal anual y permanente  |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Bosque de Pino               | 70              | Agricultura de temporal anual               |
| 50                                   | Vegetación secundaria arbustiva de Bosque de Encino-Pino        | 60              | Agricultura de riego anual y semipermanente |

|                                                          |                                                     |                                     |                                         |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|
| 50                                                       | Vegetación secundaria arbustiva de bosque de Encino | 60                                  | Agricultura de riego anual y permanente |
| 1                                                        | Sin vegetación aparente                             | 50                                  | Agricultura de riego anual              |
| 100                                                      | Selva de Galería                                    | 50                                  | Agricultura de humedad anual            |
| 100                                                      | Selva Baja Caducifolia                              |                                     |                                         |
| Variables numéricas, transformadas a escala del 1 al 10: |                                                     |                                     |                                         |
| DENSIDAD HUMANA 20%                                      |                                                     | DISTANCIA A LOCALIDADES HUMANAS 15% |                                         |
| Valor (1 a 100)                                          | Categoría                                           | Valor (1 a 100)                     | Categoría                               |
| 100                                                      | 1                                                   | 1                                   | 1                                       |
| 90                                                       | 2                                                   | 10                                  | 2                                       |
| 80                                                       | 3                                                   | 20                                  | 3                                       |
| 60                                                       | 4                                                   | 30                                  | 4                                       |
| 50                                                       | 5                                                   | 50                                  | 5                                       |
| 40                                                       | 6                                                   | 60                                  | 6                                       |
| 30                                                       | 7                                                   | 75                                  | 7                                       |
| 10                                                       | 8                                                   | 90                                  | 8                                       |
| 5                                                        | 9                                                   | 95                                  | 9                                       |
| 1                                                        | 10                                                  | 100                                 | 10                                      |
| DISTANCIA A RIOS 15%                                     |                                                     | PENDIENTE 10%                       |                                         |
| Valor (1 a 100)                                          | Categoría                                           | Valor (1 a 100)                     | Categoría                               |
| 100                                                      | 1                                                   | 100                                 | 1                                       |
| 100                                                      | 2                                                   | 100                                 | 2                                       |

|                                     |           |                            |           |
|-------------------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| 90                                  | 3         | 90                         | 3         |
| 80                                  | 4         | 70                         | 4         |
| 60                                  | 5         | 50                         | 5         |
| 40                                  | 6         | 30                         | 6         |
| 30                                  | 7         | 10                         | 7         |
| 20                                  | 8         | 5                          | 8         |
| 10                                  | 9         | 1                          | 9         |
| 1                                   | 10        | 1                          | 10        |
| DISTANCIA A CAMINOS PAVIMENTADOS 5% |           | DISTANCIA A TERRACERIAS 5% |           |
| Valor (1 a 100)                     | Categoría | Valor (1 a 100)            | Categoría |
| 1                                   | 1         | 20                         | 1         |
| 15                                  | 2         | 30                         | 2         |
| 25                                  | 3         | 40                         | 3         |
| 35                                  | 4         | 50                         | 4         |
| 50                                  | 5         | 65                         | 5         |
| 65                                  | 6         | 85                         | 6         |
| 85                                  | 7         | 95                         | 7         |
| 95                                  | 8         | 100                        | 8         |
| 100                                 | 9         | 100                        | 9         |
| 100                                 | 10        | 100                        | 10        |

**Anexo 5.** Condiciones de PCR para amplificar los marcadores Citocromo Oxidasa subunidad 1 y de determinación de sexo SRY, ZFX.

**Reactivos:**

|                | <b>SRY</b>           |                                  | <b>ZFX</b>           |                                  | <b>COI</b>           |                                  |
|----------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|
|                | <b>Concentración</b> | <b>Volumen <math>\mu</math>l</b> | <b>Concentración</b> | <b>Volumen <math>\mu</math>l</b> | <b>Concentración</b> | <b>Volumen <math>\mu</math>l</b> |
| Multiplex      | 2X                   | 7.5                              | 2X                   | 7.5                              | 2X                   | 11.5                             |
| Primer Forward | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                |
| Primer Reverse | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                | 5 pmol/ $\mu$ l      | 2                                |
| ADN            | 30 ng/ $\mu$ l       | 2                                | 30 ng/ $\mu$ l       | 2                                | 30 ng/ $\mu$ l       | 2                                |
| Agua           | -                    | 1.5                              | -                    | 1.5                              | -                    | 5.5                              |
| Volumen final  | -                    | 15 $\mu$ l                       | -                    | 15 $\mu$ l                       | -                    | 23 $\mu$ l                       |

**Condiciones de Temperatura:**

| Temperaturas:     | <b>SRY</b>           | <b>ZFX</b>           | <b>COI</b>             |
|-------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Activación        | 95°C por 15 minutos  | 95°C por 15 minutos  | 95°C por 15 minutos    |
| # de ciclos       | 40 ciclos            | 40 ciclos            | 35 a 37 ciclos         |
| Desnaturalización | 94°C por 1 minuto    | 94°C por 1 minuto    | 94°C por 30 segundos   |
| Hibridación       | 61°C por 35 segundos | 50°C por 35 segundos | 41.5°C por 35 segundos |
| Elongación        | 72°C por 1 minuto    | 72°C por 1 minuto    | 72°C por 30 segundos   |
|                   | 72°C por 10 minutos  | 72°C por 10 minutos  | 72°C por 3 minutos     |

**Anexo 6.** Metodología para purificación de producto de PCR por secuenciación tipo Sanger.

- A) La primera purificación del producto de PCR se hizo con columnas Centri-sep esterilizadas en UV, al cual se agregan aproximadamente 100 mg de Sephadex® G-50 Sigma Aldrich hasta la marca de la columna y 800 µl de agua grado molecular, se agita en vórtex hasta homogeneizar y eliminar burbujas. Se deja reposar con ambas tapas entre 40 a 60 minutos hasta ver una fase sólida y una acuosa encima, después retirar primero la tapa superior y después inferior y colocar la columna en los tubos colectores, se centrifuga a 3000 rpm y se descarta el agua del tubo colector, si el Sephadex aún queda pegado a las paredes de la columna se centrifuga por 15 segundos más a 3000 rpm. Libre de agua la columna se coloca en microtubos de 1.5 ml rotulados y se agregan 20 µl del producto de la PCR convencional al centro de la columna sin tocar la superficie. Finalmente se centrifuga a 3000 rpm durante 1 min y el producto purificado puede almacenarse a -20°C.
- B) La PCR de secuenciación se realizó usando el producto de PCR convencional purificado en columnas con Sephadex como ADN molde y el oligonucleótido forward en el caso de SRY y ZFX, sin embargo, para COI se usó el oligonucleótido reverse por ser el que obtuvo lecturas de buena calidad. Para todos los fragmentos amplificados se usaron las mismas condiciones de temperatura y reactivos, el volumen final de reacción fue de 10 µl: con 2 µl de Buffer Big Dye 5X, 1 µl de dideoxinucleótidos fluorescentes, 1 µl de oligonucleótido a concentración de 5 pmol/ µl (forward o en su caso reverse para COI), 5 µl de producto purificado de PCR y 1 µl de agua grado molecular. El programa de temperatura fue de 96°C por 1 minuto, 96°C por 10 segundos, 55°C por 10 segundos y 60°C por 4 minutos durante 33 ciclos, la temperatura final fue de 10°C por 1 minuto.
- C) El producto de PCR de secuenciación vuelve a purificarse en columnas Centri-sep y Sephadex; agregando 10 µl de agua grado molecular al producto de PCR para alicuotar a 20 µl que serán filtrados a través de la columna de Sephadex. Una vez purificado el producto de PCR de secuenciación, se seca en microcentrífuga de vacío durante 20 minutos a 30°C y se rehidrata con 12 µl de Formamida HiDi. La muestra se almacena a 5°C toda la noche para una completa hidratación de la pastilla y se cargan las muestras en la placa para secuenciación.

**Anexo 7.** Distribución espacial de los variables del paisaje significativamente asociadas con la variación haplotípica según AMOVA.

Se muestra la ubicación de los individuos de los grupos norte y sur y las flechas azules indican el límite genético del análisis de Monmonier. A) Altitud, zonas de mayor y menor altitud que 1500 msnm B) tipos de vegetación, cada categoría incluye vegetación primaria y secundaria.

