



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis de diversidad y estructura genética del borrego  
cimarrón (*Ovis canadensis weemsi* Goldman, 1937) en Baja  
California Sur.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

LILÍ ALEJANDRA MATA SAAVEDRA

DIRECTOR DE TESIS:

BIÓLOGO JAIME GASCA PINEDA

Ciudad Universitaria, D.F. 2014





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

1. Datos del alumno  
Mata  
Saavedra  
Lilí Alejandra  
0445554979826  
Universidad Nacional Autónoma  
de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
408026138
2. Datos del tutor  
Biól.  
Gasca  
Pineda  
Jaime
3. Datos de sinodal 1  
Dr.  
Piñero  
Dalmau  
Daniel  
Ignacio
4. Datos de sinodal 2  
Dr.  
Medellín  
Legorreta  
Rodrigo
5. Datos de sinodal 3  
Biól.  
Jardón  
Barbolla  
Lev  
Orlando
6. Datos de sinodal 4  
Dra.  
León  
Paniagua  
Livia  
Socorro
7. Datos del trabajo escrito  
Análisis de diversidad y estructura  
genética del borrego cimarrón  
(*Ovis canadensis weemsi*  
Goldman, 1937) en Baja California  
Sur.  
84  
2014

## Índice

Índice de Figuras .....	5
Índice de Tablas.....	5
Agradecimientos .....	8
Resumen.....	9
Abstract .....	10
1 Introducción .....	11
1. 1 Historia natural y ecología del borrego cimarrón .....	11
1. 1. 1 Ubicación taxonómica. Artiodactyla, Bovidae y <i>Ovis</i> .....	11
1. 1. 2 Distribución geográfica.....	14
1. 1. 3 Hábitos y socialización.....	16
1. 1. 4 Ciclo de vida y ciclo reproductivo .....	16
1. 1. 5 Historia evolutiva.....	17
1. 2 Importancia y manejo .....	18
1. 2. 1 Estado de conservación.....	19
1. 2. 2 Translocaciones de individuos y problemática.....	20
2 Marco Teórico .....	22
2. 1 Genética de la Conservación .....	23
2. 1. 1 Variación genética .....	24
2. 1. 2 Genética de poblaciones .....	24
2. 1. 3 Procesos que afectan la variación genética .....	24
2. 1. 4 Cautiverio y reintroducciones .....	28
2. 2 Marcadores moleculares.....	29
2. 2. 1 Mitocondria .....	29
3 Antecedentes .....	32
3. 1 Relevancia del trabajo .....	33
4 Objetivos .....	34
4. 1 General .....	34
4. 2 Particulares.....	34
5 Método.....	35
5. 1 Área de estudio .....	35
5. 2 Obtención de material biológico.....	36

5. 3 Extracción de ADN.....	37
5. 4 Amplificación y secuenciación.....	37
5. 5 Análisis de datos.....	39
5. 5. 1 Diversidad Genética.....	39
5. 5. 2 Estructura, diferenciación y flujo génico.....	40
5. 5. 3 Aislamiento por distancia.....	43
5. 5. 4 Demografía histórica.....	43
5. 5. 5 Relaciones genealógicas.....	44
6 Resultados.....	46
6. 1 Diversidad genética.....	46
6. 2 Estructura, diferenciación y flujo genético.....	50
6. 3 Aislamiento por distancia.....	52
6. 4 Demografía histórica.....	53
6. 5 Relaciones genealógicas.....	55
7 Discusión.....	57
7. 1 Diversidad genética.....	57
7. 2 Estructura, diferenciación y flujo génico.....	58
7.3 Aislamiento por distancia.....	60
7. 4 Demografía histórica.....	61
7. 5 Relaciones genealógicas.....	61
7. 6 Isla del Carmen.....	62
8 Conclusiones y Perspectivas.....	67
9 Glosario.....	69
10 Referencias.....	70
11 Anexos.....	80
11.1 Protocolo de extracción de ADN.....	80
11.2 Tabla del programa de termociclado para cada marcador utilizado.....	82
11.3 Árbol de Máxima Verosimilitud.....	82
11.4 Análisis de probabilidad mediante remuestreo.....	83

## Índice de Figuras

Figura 1. Pies paraxocónicos de distintos arteodáctilos .....	11
Figura 2. Árbol filogenético y distribución mundial del género <i>Ovis</i> . .....	13
Figura 3. Características morfológicas y dimorfismo sexual en <i>O. canadensis</i> .....	14
Figura 4. Mapa de distribución histórica de <i>Ovis canadensis</i> en América del Norte.....	15
Figura 5. Migración inferida para el género <i>Ovis</i> hacia el continente americano .....	18
Figura 6. Distribución del borrego cimarrón en Baja California Sur.....	22
Figura 7. Distribución de genes mitocondriales.....	31
Figura 8. Mapa de las localidades de origen de las muestras.....	37
Figura 9. Curva de rarefacción para los tamaños de muestra .....	48
Figura 10. Distribución y abundancia de haplotipos en el área de estudio .....	49
Figura 11. Red de Haplotipos .....	50
Figura 12. Agrupamiento genético y espacial entre poblaciones .....	51
Figura 13. Prueba de aislamiento por distancia.....	53
Figura 14. Distribución de <i>mismatch</i> .....	54
Figura 15. Neighbor-Joining entre haplotipos.....	54
Figura 16. Árbol de Neighbor-Joining entre los individuos de cada población.....	55
Figura 17. Dendrograma de distancia génica entre poblaciones.....	56
Figura 18. Árbol de máxima verosimilitud. ....	82
Figura 19. Remuestreo en una población con 2 haplotipos en igual frecuencia .....	83
Figura 20. Remuestreo en una población con 2 haplotipos en frecuencias de 25% y 75%.....	84
Figura 21. Remuestreo en una población con 2 haplotipos en frecuencias de 10% y 90%.....	84

## Índice de Tablas

Tabla 1. Secuencias de primers y temperaturas de alineación usadas.....	38
Tabla 2. Agrupación de poblaciones para el análisis de AMOVA.....	42
Tabla 3. Índices de diversidad genética entre las poblaciones de <i>O. c. weemsi</i> .....	46
Tabla 4. Diversidad genética en región control mitocondrial. ....	47
Tabla 5. Porcentajes de variación con AMOVA.....	51
Tabla 6. Índices <i>Phi</i> de variación .....	52

---

*La presente investigación fue realizada en el Laboratorio de Evolución  
Molecular y Experimental del Instituto de Ecología de la Universidad Nacional  
Autónoma de México*

---

Ruido de pies desnudos y espinados sobre la piedra ardiente.

Pujidos y gruñidos en secretos. Sonido de palos que chocan, arcos y flechas.

Respiraciones agitadas subiendo la ladera.

Tintinear de collares, de caracoles y conchas;

Fuerte olor humano, expectación, acecho.

Resoplar de fosas nasales ovinas al percibir el olor de la muerte.

Repiquetear de pezuñas hendidas huyendo en la escarpa, piedras que ruedan.

Zumbar de jaras perdidas o estrelladas.

El ruido se va desvaneciendo y llega el desconsuelo, el sentimiento de fracaso se transforma  
en hambre aguda.

Cansancio, derrota, estómagos vacíos... el tayé<sup>1</sup> volvió a escapar.

(Tapia-Landeros 1997)

---

<sup>1</sup> Tayé significa borrego en cochimí, lengua del centro peninsular de Baja California.

## Agradecimientos

Gracias a la Dirección General de Vida Silvestre de la SEMARNAT, ya que no habría sido posible realizar este estudio sin las muestras facilitadas por esta dirección.

Agradezco con especial énfasis al Dr. Luis Eguiarte y la Dra. Valeria Souza por abrirme las puertas del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, en donde realicé este trabajo.

También agradezco a mi tutor el Biólogo Jaime Gasca Pineda por todas las enseñanzas brindadas, así como la paciencia que me tuvo durante este proyecto.

A las técnicas del laboratorio la Dra. Erika Aguirre y M. en C. Laura Espinoza por su apoyo. A doña Silvia Barrientos por su alegría y orden en el laboratorio.

A Enrique y Lev por ser unos estupendos profesores en genética de poblaciones, y brindarme grandes herramientas con que apoyarme durante el desarrollo del presente trabajo.

A Santiago, Beto, Yos, Jonás, Benito, Ale Lobo y con especial énfasis a Gaby “La Mala” Castellanos por sus valiosas opiniones durante la creación de este documento. A todos los que forman el Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, que hicieron mi estadía en el mismo más afable y divertida.

A mis sinodales por sus valiosos comentarios y ayuda para mejorar este trabajo.

A mis amigos por su sola existencia, por ser parte de mi vida, colaborar con mi formación humana, y estar en todo momento. Gracias por los momentos juntos y por los que espero estén por venir.

A mi familia: Enoc, Rosario, Cindy y Edén (mis personas favoritas en la vida) porque avanzar en la vida se habría complicado si no los tuviera a mi lado. Y porque es a ellos a quienes dedico todos mis logros, además de ser los autores de mis más grandes alegrías. Gracias por la vida, el amor, la confianza y la amistad.

## Resumen

El borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) es una especie de suma importancia en México, tanto ecológica como cultural y económicamente. La problemática principal para su conservación en México es la disminución de su tamaño poblacional y en la pérdida de variación genética en algunas poblaciones. La distribución actual de la subespecie *Ovis canadensis weemsi* está restringida al estado de Baja California Sur, en donde se han implementado algunos programas de manejo. El objetivo del presente estudio fue identificar los niveles de variación genética mitocondrial en la subespecie, así como de la población de Isla del Carmen en el Golfo de California, pues esta población forma parte fundamental de un plan de manejo de grandes repercusiones para la subespecie, ya que es utilizada para repoblar algunas zonas del continente. Con la secuenciación de dos regiones mitocondriales (región control y NADH2), formando un concatenado de 1013 pares de bases de un total de 106 individuos, realizamos un análisis de diversidad, estructura, flujo génico, aislamiento por distancia, demografía y relaciones genealógicas en las poblaciones. Encontramos que en comparación con otros grupos cercanos, existe una baja diversidad en la subespecie *O. c. weemsi* ( $Hd=0.700$ ,  $\pi = 0.00406$ ), así como una alta estructura entre las poblaciones ( $F_{ST} = 0.545$ ) y tasas de migración en el equilibrio bajas ( $Nm=0.42$ ). Las poblaciones ubicadas al norte del estado presentaron mayor diferenciación respecto al resto de las poblaciones. Esta diferenciación se observa en varios de los análisis realizados, y podría deberse a aislamiento por distancia, ya que son poblaciones considerablemente separadas del resto. En cuanto a la historia demográfica, es posible que después del cuello de botella sufrido al colonizar, pudo suceder una expansión demográfica que se atribuye a las condiciones favorables del territorio mexicano recién colonizado. En la Isla del Carmen la diversidad fue nula, probablemente debido a un fuerte efecto fundador. Esto hace necesario tomar medidas precautorias al utilizar la isla como fuente de fundadores para nuevas poblaciones.

## Abstract

Bighorn sheep (*Ovis canadensis*) is a species of great ecological, cultural and economic importance in Mexico. The conservation problem of this species lies in its declining population and the loss of genetic variation in some populations. In Mexico the current distribution of the subspecies *Ovis canadensis weemsi* is restricted to Baja California Sur, where they have implemented some management programs. The aim of this study was to identify the amount of genetic variation in the subspecies and in the population of *Isla del Carmen* in the Gulf of California. This population is a fundamental part of a management plan of major impact for the conservation of the subspecies, in which the population is being used to repopulate some areas of the continent. We conducted analyses of genetic diversity, genetic structure, gene flow, isolation by distance, demography, and genealogical relationships in populations. Analyses were based on the use of sequences of two mitochondrial regions (control region and NADH2), 1013 base pairs long for 106 individuals. We found that compared to sister subspecies, there is a low genetic diversity in the subspecies *O. c. weemsi* ( $H_d = 0.700$ ,  $\pi = 0.00406$ ), high genetic structure among populations ( $F_{ST} = 0.54516$ ) and very low migration rates ( $N_m = 0.42$ ). Upstate populations showed greater differentiation from the rest of the populations. This differentiation is observed in several of the analyses performed, and could be due to isolation by distance, as they showed significant separation from other populations. Regarding the demographic history, we inferred a possible demographic expansion attributed to the favorable conditions of newly colonized Mexican territory, after a bottleneck related to colonization. In *Isla del Carmen* genetic diversity was very low, probably because of a strong founder effect. Therefore, it is necessary to take cautious measures if using the island as a source of founders for new populations.

# 1 Introducción

## 1. 1 Historia natural y ecología del borrego cimarrón

### 1. 1. 1 Ubicación taxonómica. Artiodactyla, Bovidae y Ovis

Los artiodáctilos representan una de las más dramáticas y espectaculares radiaciones evolutivas de los mamíferos (Modi *et al.* 1996). El orden Artiodactyla abarca 240 especies que sobreviven actualmente y que están contenidas en 80 géneros y 10 familias (Vaughan *et al.* 2011). Se encuentran en casi todos los tipos de hábitats, y son más comunes en los hábitats relativamente abiertos, tales como pastizales y llanuras. Son nativos de todos los continentes a excepción de Australia y Antártica (Etnyre *et al.* 2011). En particular, este grupo presenta una notable diversidad y abundancia en comparación con su orden hermano, Perissodactyla (Vaughan *et al.* 2011).

El orden se caracteriza por tener pies paraxocónicos (Figura 1), es decir, el plano de simetría pasa entre el tercer y cuarto dígito pues el primero está ausente. Los dedos de los pies se encuentran en números pares y existe una reducción del número de huesos del tobillo, así como la restricción del movimiento lateral. A menudo presentan cuernos con núcleo óseo o cornamenta, las muelas suelen tener cúspides selenodontas<sup>2</sup> o algunas veces bunodontas<sup>3</sup>; y su estómago generalmente es multicamerado (Vaughan *et al.* 2011).

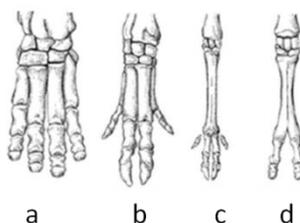


Figura 1. Pies paraxocónicos de distintos artiodáctilos. a) hipopótamo, b) cerdo, c) alce y d) camello.

<sup>2</sup> Cúspides selenodontas: aquellas con crestas en forma de media luna.

<sup>3</sup> Cúspides bunodontas: molares con cúspides redondeadas y poco desarrolladas, característico principalmente de omnívoros.

La familia Bovidae es la más grande dentro de los artiodáctilos, la de mayor interés comercial y la más diversa de los ungulados vivientes. Contiene 50 géneros y 143 especies (Vaughan *et al.* 2011), con aproximadamente 300 especies extintas (Gatesy *et al.* 1992; Gómez *et al.* 2011). Se distribuye naturalmente en África, Eurasia y América del Norte (Gatesy *et al.* 1992; Hassanin y Douzery 1999). Habita principalmente pastizales, y su dentición y extremidades podrían ser derivadas de los hábitos alimenticios. Poseen muelas con coronas altas y los caninos superiores se encuentran reducidos o ausentes, al igual que los dígitos laterales. Una de sus principales características son los cuernos con núcleo óseo y cubierta queratinizada que a menudo son grandes y pueden tener distintas formas, sin embargo nunca son ramificados ni mudan, e incluso en algunas especies continúan creciendo a lo largo de la vida del individuo. Ésta cornamenta es comúnmente utilizada en peleas durante la época de apareo o en luchas ritualizadas (Vaughan *et al.* 2011).

De los bóvidos existentes, en México se encuentran sólo dos especies, el bisonte americano (*Bison bison*) y el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*). El primero de ellos estuvo considerado extinto en México, sin embargo se localizó una población silvestre entre Nuevo México y Chihuahua (Arita y Ceballos 1997; List y Solís 2008), y se realizó una reintroducción en la Reserva de la Biosfera en Janos, Chihuahua (List *et al.* 2010).

De acuerdo con el Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS por sus siglas en inglés) el género *Ovis* Linnaeus (1758) pertenece a la familia Bovidae y posee 5 especies reconocidas actualmente: *O. ammon*, *O. canadensis*, *O. dalli*, *O. aries* y *O. nivicola* (ITIS 2013b), aunque la aceptación de las mismas se encuentra en discusión y en ocasiones se proponen hasta 7 especies (Hiendleder *et al.* 2002; Rezaei *et al.* 2010). La dificultad en su clasificación se incrementa debido a que la distribución de varios taxa se sobrelapa. Esto genera híbridos fértiles y, por lo tanto, incrementa el número de subespecies (Rezaei *et al.* 2010). La distribución natural del género (Figura 2) va desde el Oeste de Europa, pasando por Asia, hasta América del Norte (Rezaei *et al.* 2010).

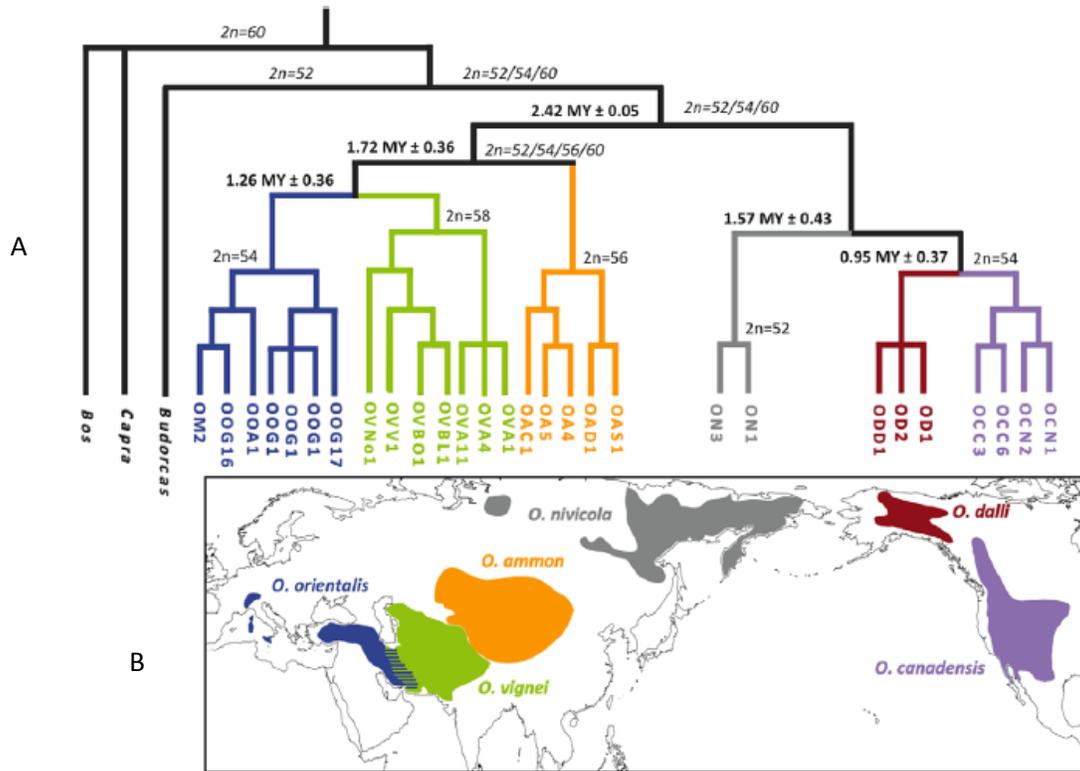


Figura 2. (A) Árbol filogenético obtenido mediante un análisis bayesiano usando Citocromo B, el tiempo de divergencia y el número cromosómico diploide se presenta en los nodos. (B) Distribución mundial del género *Ovis* (Rezaei et al. 2010). Las especies *O. orientalis* y *O. vignei* actualmente se encuentran catalogadas como *O. aries*.

El borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) se caracteriza por ser de color café, pasando por una gama desde café rojizo hasta chocolate oscuro. La porción anterior del rostro, la zona ventral y los márgenes posteriores de las piernas son casi blancos. El pelaje más claro en las patas traseras es continuo, con un distintivo parche claro en la rabadilla. Las hembras y machos tienen un marcado dimorfismo sexual (Figura 3) que se evidencia principalmente en los caracteres sexuales secundarios como los cuernos y el tamaño del cuerpo (Shackleton 1985). Las características distintivas de esta especie son: cuernos pesados y curvos, orejas cortas y hocico largo y estrecho. En la actualidad el borrego cimarrón se distribuye en un territorio que durante las eras de hielo pudo haber sido inhabitable para su especie (McTaggart-Cowan 1940).



Figura 3. Características morfológicas y dimorfismo sexual en *O. canadensis*. Izquierda: hembra; derecha: macho (Imagen: Elizabeth McClelland from Kays and Wilson's *Mammals of North America*, © Princeton University Press, 2002).

Actualmente se encuentran aceptadas siete subespecies vivas de *Ovis canadensis*: *O. c. californiana*, *O. c. canadensis*, *O. c. cremnobates*, *O. c. mexicana*, *O. c. nelsoni*, *O. c. weemsi* y *O. c. auduboni* (ITIS 2013a). Ésta clasificación fue realizada con base en caracteres morfológicos, como el tamaño del cráneo (McTaggart-Cowan 1940). *O. c. auduboni* está extinta (Shackleton 1985; ITIS 2013a).

### 1. 1. 2 Distribución geográfica

El borrego cimarrón se distribuye desde el sur de la Columbia Británica y el suroeste de Alberta en Canadá hasta el sur de Baja California, Sonora, Chihuahua y Coahuila en México (Figura 4). Dentro de su distribución se reconocen dos ecotipos: desérticos y de montaña. Las poblaciones ubicadas en México son del tipo desértico, caracterizadas por habitar montañas con clima seco y vegetación escasa (Krausman *et al.* 1989). Las tres subespecies de desierto que habitan en México son: *O. c. mexicana* en Sonora, *O. c. cremnobates* en el tercio superior de la Península de Baja California y *O. c. weemsi* en casi toda la mitad sur de la Península de Baja California (Sánchez *et al.* 1998). En México residen la mayoría de las subespecies desérticas a excepción de *O. c. nelsoni* que se distribuye en California y las zonas desérticas de Nevada (McTaggart-Cowan 1940).

Aunque históricamente en México el borrego cimarrón se distribuía en Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Sonora, Baja California y Baja California Sur, en la actualidad se ha reducido a Sonora, Baja California y Baja California Sur, debido a factores como la destrucción del hábitat, la introducción de especies domésticas, enfermedades, cambio climático, la sobrecacería y la caza furtiva, entre otros (Tarango y Krausman 1997). En términos generales los tamaños censales se han reducido en los últimos años. Por su parte las poblaciones de Baja California Sur se distribuyen principalmente en los sistemas montañosos de la zona de Las Vírgenes, cercana a la ciudad de Santa Rosalía, en la zona de La Giganta, cercana a Loreto y en la zona de El Mechudo, situado al sur de Baja California Sur en el municipio de La Paz (Jimenez *et al.* 1996; Tapia-Landeros 1997), siendo éste último el límite sur de su distribución (Figura 6) (Alvarez-Cárdenas *et al.* 2009).

Por su parte, la distribución de los cuerpos de agua tiene una fuerte influencia en los patrones de distribución del borrego cimarrón, ya que la presencia de cuerpos de agua superficiales y la precipitación son determinantes para su supervivencia (Shackleton 1985; Gross *et al.* 2000).

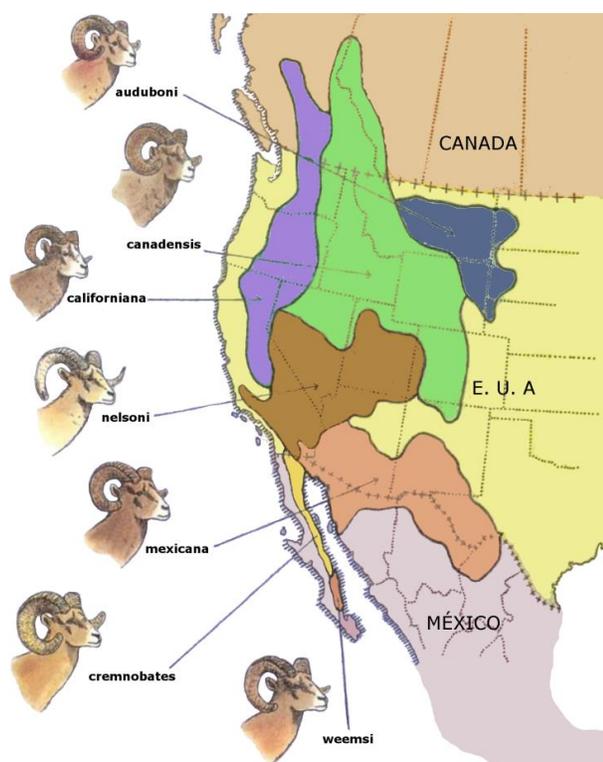


Figura 4. Mapa de distribución histórica de las subespecies de *Ovis canadensis* en América del Norte (Tapia-Landeros 1997).

### **1. 1. 3 Hábitos y socialización**

Los borregos cimarrones viven en grupos que van de 2 a 9 individuos y varían dependiendo de la temporada del año y la localidad (Shackleton 1985). Sin embargo, los machos mayores de tres años de edad viven separados de las hembras y las crías, por lo que su rango de distribución es distinto al de las hembras (Shackleton 1985), aunque ocasionalmente pueden compartir áreas (Zurita-Vázquez 2011).

Los machos viven en grupos y durante la época de celo desarrollan un comportamiento agresivo a partir del cual establecen relaciones de dominancia que están asociadas al tamaño de la cornamenta y a sus habilidades de pelea. Posteriormente se asocian al grupo de hembras para reproducirse, y una vez pasado este periodo se disgregan de él. Por su parte, los grupos de hembras no presenta fuertes relaciones de dominancia (Shackleton 1985; Smith 1988), pero sí un fuerte comportamiento de filopatría.

En particular, *O. c. weemsi* se caracteriza por tener hábitos alimentarios con una mayor preferencia hacia especies arbustivas, seguidas de hierbas y pastos (*Muhlenbergia sp.*, *Panicum sp.* y *Aristida sp.*). En otoño e invierno tiene preferencia por especies suculentas debido a la escases de agua, por ello es considerada como generalista (Zurita-Vázquez 2011). Esta subespecie suele preferir colinas, áreas rocosas, sitios erosionados o lugares cercanos de fuentes de agua superficial como sitios de descanso (Shackleton 1985), lo que hace que la distribución de su hábitat se encuentre en parches, y por consiguiente su distribución sea fragmentada, disminuyendo así las posibilidades de flujo génico.

### **1. 1. 4 Ciclo de vida y ciclo reproductivo**

Los machos y las hembras son maduros sexualmente a los 18 meses. A pesar de ello, las hembras no suelen reproducirse sino hasta los 2.5 años de edad. La cópula suele ocurrir entre julio y diciembre (principalmente a finales de verano y otoño) y las crías nacen de enero a junio. Sin embargo, en la subespecie *O. c. weemsi* es posible observar crías todo el año, debido a que no suceden nevadas en su área de distribución, lo que propicia un comportamiento distinto al resto de la especie (Tapia-Landeros 1997). El periodo de gestación es de 175-180 días y las crías son destetadas entre los 4 y 6 meses (Smith 1988). Las crías presentan un crecimiento rápido durante los primeros seis meses de vida, después de los

cuales cesa o se hace más lento y continúa en la siguiente primavera. Las hembras dejan de crecer a los 3 o 4 años de edad y los machos hasta los 8 años (Shackleton 1985).

El borrego cimarrón es depredado por coyotes, pumas, gatos monteses, águilas y zorras grises (Smith 1988; Jorgenson y Festa-Bianchet 1997; Alvarez-Cardenas *et al.* 2001; Álvarez-Romero y Medellín 2005). Aunque la depredación es limitada, la mayor parte de la mortalidad está asociada a las condiciones rigurosas que imperan en su hábitat, incrementando la mortalidad por caídas.

La muerte por enfermedades es también considerada una de las causas que mayor impacto han tenido en la población de borregos cimarrones, ya que el estrés inducido a la población se refleja en el decrecimiento de la respuesta inmune y por tanto en una mayor susceptibilidad a enfermedades (SEMARNAP 2000b; Cassaigne *et al.* 2010).

La endogamia también puede contribuir a la mortalidad en aquellas zonas aisladas o poblaciones pequeñas que suelen caracterizar a la mayoría de las poblaciones desérticas (Smith 1988), y contribuye también a incrementar la mortalidad por enfermedades (Cassaigne *et al.* 2010).

### **1. 1. 5 Historia evolutiva**

Filogenias basadas en datos moleculares, etológicos y morfológicos sugieren que el género *Ovis* es monofilético y que divergió de la subfamilia Caprinae hace 2 ó 3 millones de años (Rezaei *et al.* 2010). Estas filogenias indican un ancestro euroasiático para el género y el paso del ancestro (*O. nivicola*) hacia el continente americano por el estrecho de Bering durante el Pleistoceno. Esto es apoyado por la evidencia de que los taxa americanos son monofiléticos y por los tiempos de divergencia con *O. nivicola* (1.6 ma aproximadamente), y entre *O. dalli* y *O. canadensis* (1 ma.) (Figura 2a y 5) (Sushkin 1925; McTaggart-Cowan 1940; Geist 1985; Rezaei *et al.* 2010; Vaughan *et al.* 2011).

Una vez iniciada la colonización del continente, la formación de las capas de hielo en las eras glaciales sucesivas dividieron a la población de América del Norte en dos grupos: norteños (*O. dalli*) y sureños (*O. canadensis*) (Figura 2b y 5). La división de estos grupos propició que evolucionaran bajo distintas condiciones, permitiendo que las poblaciones del sur diversificaran y lograran expandirse ampliamente (McTaggart-Cowan 1940).

Por otra parte, se ha propuesto un migración posterior de América a Asia (Lee-Stokes y Condie 1961), luego de un considerable periodo de aislamiento pleistocénico, explicando así la gran relación entre estas tres especies (*O nivicola*, *O. dalli* y *O. canadensis*) (McTaggart-Cowan 1940; Bunch *et al.* 2006).

El registro fósil más antiguo del género *Ovis* en Norte América es de hace 100,000 años y se localizó en los depósitos Medicine Hat en Alberta. Esto indica que el género pudo arribar a América durante el periodo glacial precedente. *O. canadensis* se ha reportado en 30 sitios del Pleistoceno tardío (125,000- 10,000 años A.P<sup>4</sup>). Muchos de estos especímenes poseen dimensiones mayores en el cráneo que los especímenes modernos, y se cree que el incremento de tamaño se debió a las condiciones tan favorables que se presentaron mientras se dispersaban los migrantes por Norte América (Shackleton 1985).

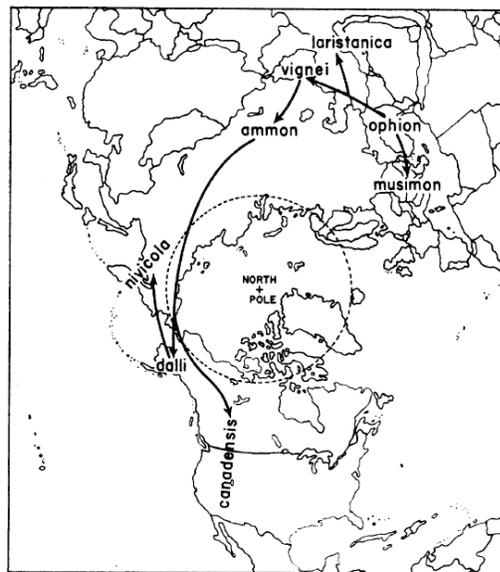


Figura 5. Migración inferida para el género *Ovis* hacia el continente americano. (Lee-Stokes y Condie 1961)

## 1. 2 Importancia y manejo

La importancia ecológica del borrego cimarrón radica principalmente en regular el crecimiento poblacional de las especies de las que se alimenta. Además, en su etapa juvenil es presa de

---

<sup>4</sup> A. P.: Antes del presente

coyotes, pumas y águilas, lo que lo convierte en una especie clave dentro de la cadena trófica. Es una especie indicadora de la calidad del hábitat, pues es muy sensible a perturbaciones antrópicas, y tiende a alejarse de los lugares perturbados (Krausman y Shackleton 2000).

En el ámbito cultural el borrego cimarrón ha formado parte del desarrollo y creencias de pueblos antiguos, tales como los Seris y Pápagos, funcionando también como emblema de algunas instituciones (SEMARNAP 2000b).

Por otro lado, en el ámbito científico ha funcionado como organismo modelo para distintos estudios de genética de poblaciones (Forbes y Hogg 1999; Gutiérrez Espeleta *et al.* 2000; Whittaker *et al.* 2004; Allendorf *et al.* 2012; Driscoll *et al.* 2012; Gasca-Pineda *et al.* 2013).

Uno de los grandes intereses acerca del borrego cimarrón es el económico, pues es considerado un valioso trofeo de caza debido a su porte, cornamenta y a la dificultad de su cacería. Esto provoca que los precios de cacería vayan de \$58,000 dólares hasta los \$72,000 o más, dependiendo del área y la cantidad de permisos de aprovechamiento brindados en la temporada. Por ello, representa un ingreso importante para las UMAs<sup>5</sup> que se encuentran encargadas de esta especie (SEMARNAP 2000b).

Hacia el 2009 en el país se encontraban registradas 88 UMAs que trabajaban con el borrego cimarrón (SEMARNAT 2010), y son los ingresos provenientes de estas unidades de manejo los principales promotores de estudios científicos que tienen como finalidad la conservación de la especie.

### **1. 2. 1 Estado de conservación**

En México, la NOM-059-SEMARNAT-2010, considera al borrego cimarrón como especie sujeta a protección especial (Pr), es decir, puede llegar a encontrarse amenazado por la incidencia negativa de ciertos factores en su viabilidad, por ello es necesario propiciar su recuperación y conservación además de las poblaciones de especies asociadas.

---

<sup>5</sup> Unidad de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre. Estas unidades buscan promover esquemas alternativos de producción compatibles con el cuidado del ambiente, a través del uso racional, ordenado y planificado de los recursos naturales renovables en ellas contenidos, frenando o revirtiendo los procesos de deterioro ambiental.

En el 2008 se catalogó según los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por su siglas en inglés) bajo el criterio de preocupación menor (LC), debido a que posee una amplia distribución y una población grande, además su crecimiento poblacional no está decayendo a la tasa requerida para calificar en alguna de las categorías de riesgo (Festa-Bianchet 2008).

De acuerdo con la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES por sus siglas en inglés), sólo las poblaciones mexicanas se ubican en el Apéndice II, lo que significa que no están necesariamente en peligro de extinción pero podrían estarlo a menos que el comercio sea regulado de forma correcta (CITES 2013).

En lo concerniente a las subespecies mexicanas la lista roja de la UICN (Red list 2000) catalogó a *O. c. weemsi* como en peligro crítico (CR), a *O. c. cremnobates* como en peligro (EN) y a *O. c. mexicana* como vulnerable (VU)(ITIS 2013a; Álvarez-Romero y Medellín 2005).

### **1. 2. 2 Translocaciones de individuos y problemática**

La cacería no fue ésta la principal actividad que puso en riesgo a las poblaciones del borrego cimarrón en México, sino la rápida expansión y crecimiento de las poblaciones humanas que provocan la fragmentación, degradación y desaparición de su hábitat (Gross *et al.* 2000; SEMARNAP 2000b). Otro factor relevante en la disminución o extinción de sus poblaciones es la transmisión de enfermedades por el ganado (Gutierrez-Espeleta *et al.* 2001).

Los esfuerzos de recuperación de las poblaciones del borrego cimarrón constan de tres fases: 1) la restricción de la cacería y el establecimiento de refugios, 2) el desarrollo de mejores inventarios, experimentación con desarrollos de agua y manejo de animales, y finalmente 3) la apertura de cacería limitada (Smith 1988). Existe también una fase adicional sobre el restablecimiento de las poblaciones a lo largo de su distribución histórica (Smith 1988), que fue creada posteriormente para tener un mayor éxito de los programas de recuperación.

Estos esfuerzos de recuperación han permitido la estructuración del “Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) en México”, propuesto por la SEMARNAT en el 2000, y que tiene la finalidad de proteger a las poblaciones de borrego cimarrón y su hábitat a través del impulso de la

investigación y conocimiento de la especie, y el fomento de proyectos de apoyo y de financiamiento (SEMARNAP 2000b). También se han realizado planes de manejo por parte de fundaciones independientes como Organización Vida Silvestre A.C. (OVIS), quien ha desarrollado el “Proyecto de recuperación del borrego cimarrón del desierto en Baja California Sur, México” (Jimenez *et al.* 1996). Este proyecto consistió en la introducción de individuos a la Isla del Carmen con el propósito de recuperar a la subespecie residente de esta zona, posteriormente se introdujeron individuos provenientes de Isla del Carmen en el continente en aquellas zonas en las que el borrego se distribuyó originalmente. Esta isla fue seleccionada debido a que posee una topografía y vegetación similar al hábitat natural de *O. c. weemsi* (Jimenez y Hernandez 2010), además carece de otros mamíferos grandes y la actividad humana es casi inexistente (Jimenez *et al.* 1997). Al estar aislada, la isla funcionaría como un reservorio en caso de alguna catástrofe en el continente, preservando así la integridad genética de la especie (Jimenez *et al.* 1996).

Profundizando en este último plan de manejo, debemos mencionar que de los 26 borregos introducidos en esta isla en diciembre de 1995, doce de ellos (2 machos y 10 hembras) provienen de la zona sur de la Sierra El Mechudo. Esta sierra se encuentra en el límite sur de su distribución (Alvarez-Cárdenas *et al.* 2009). Los restantes 14 individuos (2 machos y 12 hembras) introducidos en diciembre de 1996 provenían de la zona norte del Mechudo (Figura 6) (Jimenez *et al.* 1997; Brigham *et al.* 2007). Los individuos se extrajeron de las poblaciones más densas después de haber hecho una evaluación en helicóptero en la Sierra la Giganta y El Mechudo (Jimenez *et al.* 1996; Manterola y Piña 1999). Se realizaron estudios a los individuos fundadores para conocer sus enfermedades, y se encontró que los de la zona sur presentaban mayor número de ectoparásitos, quizá debido a la presencia de animales ferales en esta área (Jimenez *et al.* 1997). Hoy estas poblaciones han crecido más de lo previsto por las proyecciones realizadas teniendo un aproximado de 450 individuos en el 2008 (Jimenez y Hernandez 2010).

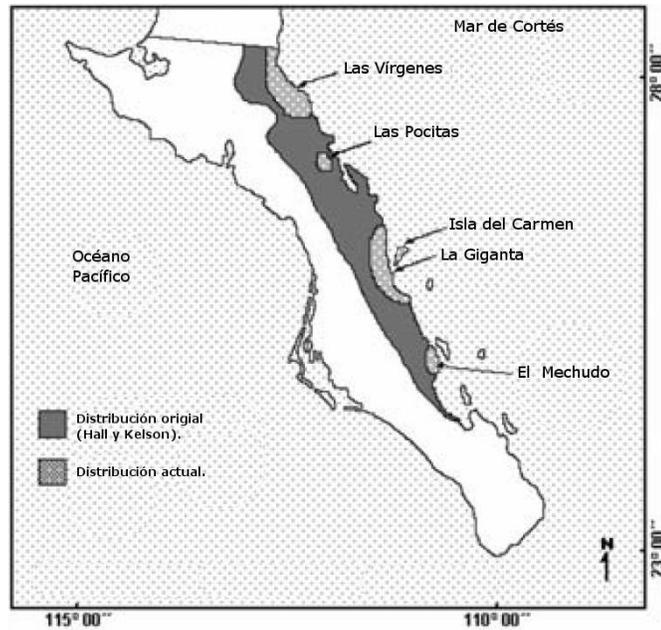


Figura 6. Distribución del borrego cimarrón (*O. c. weemsi*) en Baja California Sur (modificado de Manterola y Piña 1999).

A partir de inicios del 2005 se comenzaron a realizar las reintroducciones desde la isla a ciertas zonas del continente. Hasta el 2010 se realizaron tres reintroducciones, constituyendo un total de 65 individuos en 3 áreas de la Sierra El Mechudo, y se considera que las liberaciones fueron exitosas (Jimenez y Hernandez 2010).

## 2 Marco Teórico

Hoy en día una gran variedad de especies se encuentran amenazadas o en peligro de extinción por razones que van desde la pérdida del hábitat, la sobreexplotación, la introducción de especies a nuevos ambientes, hasta la contaminación y el cambio climático (Hedrick y Miller 1992; Frankham *et al.* 2010). Aunque también se debe a otros factores extrínsecos, como incertidumbre ambiental o catástrofes naturales, y algunos intrínsecos, tales como la estocasticidad demográfica y el deterioro genético (Hedrick y Miller 1992).

Esta variedad de especies es incluida en el término que conocemos como biodiversidad, y que forma parte de la materia prima en la biología de la conservación. El término biodiversidad es muy amplio, ya que abarca distintos niveles, que van desde la diversidad de ecosistemas, pasando

por la diversidad de especies hasta la diversidad genética. Las categorías de diversidad se pueden jerarquizar, y se considera que los estratos más bajos (aquellos a nivel micro) contienen los detalles de interés para los conservacionistas, y pueden esbozar mecanismos base para patrones de orden en otro nivel jerárquico; sin embargo es posible evaluar un nivel de diversidad desde otro, ya sea superior (macro) o inferior en la jerarquía (Noss 1990).

La biodiversidad es mantenida por procesos naturales de extinción y especiación, que definen la tasa de diversificación (Ricklefs 2007), al romperse el equilibrio entre estos procesos, la diversidad biológica se ve amenazada (Frankham *et al.* 2010), llegando al punto en que a algunas especies ya sólo es posible encontrarlas en condiciones de cautiverio (Hedrick y Miller 1992). Así, en años recientes se ha dado un incremento en el uso de la genética molecular evolutiva, como herramienta para mejorar los programas dedicados a mantener la diversidad genética en poblaciones naturales y en cautiverio (Hedrick y Miller 1992).

Se han desarrollado áreas de estudio con la finalidad de entender las razones de pérdida de biodiversidad y proponer alternativas para la reducción de la misma. Una de estas disciplinas es la genética para la conservación, que aplica los conocimientos genéticos para reducir el riesgo o la tasa actual de extinción en especies en peligro, procurando el mantenimiento de la biodiversidad (Frankham *et al.* 2010).

## **2. 1 Genética de la Conservación**

El uso de la genética en conservación surge a partir de la unión entre genética evolutiva, la teoría de la genética cuantitativa y la biología de la conservación. Comprende el uso de la teoría y técnicas genéticas para ayudar a reducir el riesgo de extinción de especies amenazadas, así como el manejo de poblaciones pequeñas para mantener su diversidad genética y disminuir la endogamia, resolver incertidumbres taxonómicas, delimitar las unidades de manejo, el uso de análisis forenses de genética molecular y en mejorar el entendimiento de las especies biológicas (Frankham *et al.* 2010).

El objetivo de la genética de la conservación es contribuir a largo plazo a la preservación de especies como entidades dinámicas con potencial evolutivo y capaces de lidiar con cambios ambientales (Frankham *et al.* 2010; Höglund 2009), pues en los últimos tiempos se ha visto una tasa de extinción sin precedentes (Allendorf *et al.* 2012), en donde los factores estocásticos así como la endogamia juegan un rol de gran importancia.

### **2. 1. 1 Variación genética**

La variación genética es la cantidad de variación heredable en una población o especie, y es requerida por las poblaciones para evolucionar en respuesta a cambios en el ambiente (FitzSimmons 1995; Höglund 2009). En su ausencia, las poblaciones pueden extinguirse al no lograr responder a algún cambio ambiental importante (Frankham *et al.* 2010; Höglund 2009). El estudio de la variación genética permite la comprensión de los procesos evolutivos actuales e históricos que han generado los patrones de diversidad existentes, así como la inferencia de los gradientes ecológicos y el grado de aislamiento reproductivo entre localidades (Mace *et al.* 1996). Es posible también distinguir las unidades evolutivamente significativas (Fraser y Bernatchez 2001) y la cantidad de flujo genético entre tales unidades.

La diversidad genética es la medida para cuantificar la magnitud de variación genética en una población o grupo de estudio, ya sea de genotipos o alelos (ver Glosario) (Hughes *et al.* 2008; Frankham *et al.* 2010). Cuando un locus cuenta con más de un alelo se habla de un polimorfismo, y son éstos quienes juegan un papel importante en la ecología, conservación de especies y poblaciones (Allendorf *et al.* 2012).

### **2. 1. 2 Genética de poblaciones**

La genética de poblaciones se encarga de encontrar la cantidad, distribución y origen de la variación genética entre y dentro de las poblaciones, así como el destino de ésta variación a nivel espacial y temporal (Templeton 2006; Hedrick 2011). Esto proporciona un conjunto de principios para entender los procesos evolutivos (Hedrick 2011), así como la interpretación de medidas de variación genética y la predicción de los efectos futuros de los factores evolutivos y las estrategias de manejo (Hedrick 2004), que son de suma importancia para la conservación.

### **2. 1. 3 Procesos que afectan la variación genética**

Los principales factores que promueven la variación son las mutaciones, el flujo génico, apareamientos no azarosos, y ciertos tipos de selección natural (Futuyma 2009), y son quienes afectan la estabilidad del equilibrio de Hardy-Weinberg. Éste equilibrio supone una población

de tamaño infinito, donde los apareamientos son al azar, no hay mutaciones, migración o selección natural (Frankham *et al.* 2010; Futuyma 2009). De cumplirse el modelo Hardy-Weinberg, no habrá cambios en las frecuencias alélicas a través del tiempo (Hedrick 2011). Este equilibrio funciona como modelo nulo de estasis evolutiva (Templeton 2006; Frankham *et al.* 2010), que permite comprobar desviaciones de la estabilidad, evidenciando con ello que por lo menos alguna fuerza evolutiva está actuando sobre la población en cuestión (Hamilton 2009; Frankham *et al.* 2010).

### ***Selección natural***

La selección natural es el principal proceso evolutivo responsable de adaptación (Gillespie 1998), y la diversidad genética provee la materia prima para la evolución por selección natural (Fisher 1930). Cuando sucede un cambio evolutivo a largo plazo mediante selección natural, se considera que es una respuesta genética al cambio ambiental y se conoce como evolución adaptativa. Esta fuerza evolutiva permite prosperar a una población bajo condiciones más extremas, que algunos de los individuos originales no habrían podido tolerar, colaborando de esta manera a la conservación de tales poblaciones. (Frankham *et al.* 2010). Cuando una población se adapta a distintas condiciones ecológicas se le denomina ecotipo (Frankham *et al.* 2010).

Existen tres tipos básicos de selección que operan en los caracteres cuantitativos: 1) selección direccional, que favorece a los fenotipos ubicados en un extremo de la distribución, y por consiguiente resulta en un cambio en la media en favor de esta dirección; 2) selección estabilizadora, que favorece a los fenotipos intermedios y no produce cambios en la distribución de la media, pero puede resultar en la disminución de la variación en futuras generaciones; 3) selección disruptiva, es aquella que favorece a los dos extremos fenotípicos de la variación, y puede incrementar la variación en generaciones futuras (Frankham *et al.* 2010).

### ***Endogamia***

La endogamia es la procreación entre individuos que se encuentran relacionados por ancestría (Frankham *et al.* 2010) es decir, que tenga una relación de consanguinidad. Esta

fuerza incrementa la homocigosis y permite la expresión de alelos deletéreos raros. En ocasiones puede conducir a depresión por endogamia, que es la reducción en la adecuación de la progenie debida a la reducción de su reproducción y supervivencia (Neigel 1996; Frankham *et al.* 2010), disminuyendo su tasa de crecimiento poblacional, y ha sido implicado en eventos de extinción de poblaciones silvestres (Reed *et al.* 2003).

En ocasiones, cuando se alcanza un tamaño poblacional pequeño, la endogamia tiende a incrementar y se pierde la estabilidad demográfica, lo que induce un menor número poblacional y una mayor endogamia, creando un ciclo de retroalimentación conocido como vórtice de extinción (Rocha y Gasca 2007; Frankham *et al.* 2010; Allendorf *et al.* 2012). De esta manera las poblaciones pequeñas son más susceptibles a un evento de extinción, que aquellas de gran tamaño.

La mayoría de las especies en peligro de extinción (77%) presentan variación genética reducida, al igual que un decremento en su capacidad evolutiva y reproductiva, e incremento en la endogamia, lo que implica a futuro un riesgo elevado de extinción (Frankham *et al.* 2010). Así, la importancia de este proceso en la conservación es grande, debido a la reducción de adecuación reproductiva en poblaciones endógamas, que incrementan su riesgo de extinción (Frankham *et al.* 2010).

### ***Deriva génica y efecto fundador***

La deriva génica es un cambio aleatorio de las frecuencias alélicas de generación en generación, debido a un proceso estocástico conocido como error de muestreo (Allendorf *et al.* 2012), y su magnitud incrementa de forma inversa al tamaño de la población (Allendorf *et al.* 2012; Frankham *et al.* 2010). Siendo el tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) el tamaño de una población ideal que podría producir la misma cantidad de endogamia, variación de la frecuencia alélica, o pérdida de heterocigosis que una población real (Hedrick 2011). La deriva génica es capaz de ocasionar la pérdida de casi todos los alelos (Frankham *et al.* 2010), y de moldear las frecuencias alélicas y de todos los loci en una población finita (Hedrick 2011).

Cuando una población proviene de un número de fundadores muy bajo, es posible que la heterocigosis y el número de alelos sea menor al número contenido en la población ancestral de la cual provienen los precursores de la población, a este efecto se le conoce como efecto fundador (Hedrick 2011). El efecto fundador produce un incremento drástico de la deriva génica, al ser

un muestreo muy pequeño de la población ancestral (Hartl y Clark 1989) y, ocasiona una rápida diferenciación entre la población recién fundada y su precursora, efecto semejante a un cuello de botella (reducción aguda en el tamaño de una población, puede ser a corto o largo plazo) sufrido en una población (Frankham *et al.* 2010; Hedrick 2011). Estos procesos perjudican la conservación de las poblaciones, pues propician un mayor impacto de la endogamia, además disminuyen la eficacia de la selección natural en las poblaciones. Finalmente pueden culminar en el decremento de la adecuación, por ello es ideal disminuir al máximo el efecto de estas fuerzas (Frankham *et al.* 2010).

### ***Flujo génico***

El flujo génico se refiere al movimiento de genes entre poblaciones, y puede ser considerado análogo a la migración sólo si se supone que los migrantes tienen éxito reproductivo en la nueva población (Neigel 1996).

Para conservar una población, la migración es relevante a nivel tanto ecológico como genético, ya que puede alterar el tamaño poblacional o la densidad, así como la variación genética. La teoría indica que aún con un bajo nivel de migración es posible reducir la diferenciación genética entre poblaciones, ocasionada por deriva génica (Neigel 1996; Allendorf *et al.* 2012), y que produce la fijación de alelos en las poblaciones (Frankham *et al.* 2010). El nivel de flujo génico alto homogeneiza la variación genética entre grupos (Hedrick 2011), lo que permite que se comporte como una gran población (Frankham *et al.* 2010), y generalmente se requiere más de un migrante por generación para prevenir la fijación de alelos en poblaciones fragmentadas (Frankham *et al.* 2010). Mitigando de esta manera otros procesos evolutivos que podrían llevar a la desaparición de una población.

### ***Mutación***

La mutación junto con la recombinación es la fuente inicial de toda la variación genética en una población (Hedrick 2011) y junto con la migración evitan la pérdida de variación en una población (Frankham *et al.* 2010). Las causas de las mutaciones pueden ser errores en la replicación del ADN, la inserción de elementos transponibles (conocidos también como elementos móviles), rompimiento físico de un cromosoma, o una falla en la disyunción en la meiosis, incluso puede suceder por factores externos como la exposición a mutágenos (Hedrick 2011). Sin embargo, las mutaciones y la recombinación intragénica tienen una baja

probabilidad de ocurrencia (Hamilton 2009; Frankham *et al.* 2010), además de que producen consecuencias evolutivas sólo si son transferidas con éxito a la progenie (Futuyma 2009).

En el contexto de la conservación, los eventos más importantes de mutación y de recombinación intragénica son aquellos que afectan a los loci relacionados con la adecuación. La mayoría de las mutaciones no son benéficas (Allendorf *et al.* 2012), pudiendo ser deletéreas, letales o neutras. Las mutaciones ocurren muchas veces en regiones no codificantes del genoma, otras a pesar de ocurrir en regiones codificantes, pueden no resultar en la sustitución de aminoácidos en las proteínas (substituciones silenciosas), y a menudo tienen poco o ningún impacto en la adecuación (son mutaciones neutrales) (Frankham *et al.* 2010). Desde el punto de vista estructural, los principales tipos de mutaciones génicas son las sustituciones puntuales, las inserciones, las deleciones, y los rearrreglos cromosómicos (Futuyma 2009). Estas mutaciones pueden tener distinto impacto (o ninguno) en la adaptación de los portadores.

#### **2. 1. 4 Cautiverio y reintroducciones**

Una de las metas principales de los programas de reproducción en cautiverio es la maximización de la supervivencia de los alelos fundadores, así como la reintroducción de la especie al hábitat original, por ello es crucial mantener la representación genética de los fundadores silvestres (Hedrick y Miller 1992). La información genética de las poblaciones puede colaborar de forma extraordinaria a las decisiones de traslados, por ejemplo, conociendo el grado de variación genética es posible favorecer o desfavorecer este movimiento de poblaciones (Luikart y Allendorf 1996).

Una vez reintroducida la población, es posible que suceda un aislamiento, disminuyendo su tamaño y reduciendo las posibilidades de flujo génico. Esto incrementa la posibilidad de perder variación genética en un breve periodo de tiempo debido a deriva génica y endogamia, propiciando la reducción de la adecuación y el potencial adaptativo. La disminución de variación se puede prevenir con el intercambio de unos pocos individuos entre áreas aisladas cada pocas generaciones (Luikart y Allendorf 1996; Wisely *et al.* 2007).

## 2. 2 Marcadores moleculares

Las técnicas moleculares permiten distinguir las diferencias en el ADN entre cualquier especie (Allendorf *et al.* 2012). Para identificar estas diferencias son utilizados los marcadores moleculares, que son regiones de ADN que presentan variantes detectables (Toro *et al.* 2009). Es decir, son fragmentos específicos de ADN que pueden ser identificados dentro del genoma (Avice 2004), y pueden ser utilizados para marcar la posición de un gen particular o una región del mismo.

Desde el punto de vista funcional, los marcadores moleculares se han agrupado en dos clases: a) aquellos que codifican para secuencias de ADN que se expresan, y b) aquellos a los que no se les ha identificado una función biológica. Éstos últimos se conocen como neutrales, pues no afectan el fenotipo o la adecuación, y son útiles para determinar las relaciones genéticas entre individuos, flujo génico, estructura poblacional y demografía histórica (Allendorf *et al.* 2012). Los marcadores que involucran secuencias codificantes se caracterizan por un bajo grado de polimorfismo pero alta conservación evolutiva, mientras los neutrales tienen un alto polimorfismo y baja conservación entre especies (Toro *et al.* 2009).

La selección no opera en los marcadores moleculares neutrales, y su variación es determinada principalmente por factores evolutivos no selectivos, tales como deriva génica, flujo génico y mutación (Nei 1987). Por otro lado, aquellos loci bajo selección direccional o balanceadora, podrían presentar patrones de variación que reflejen eventos selectivos pasados y no necesariamente consistentes con la historia poblacional o estructura del taxa (Boyce *et al.* 1997).

### 2. 2. 1 Mitocondria

El genoma mitocondrial de los mamíferos (Figura 7) consta de una molécula de ADN de doble cadena circular de 15,000 a 20,000 pares de bases (pb) de longitud, que contiene 13 genes codificantes para proteínas, 22 genes de tARN, 2 genes de rARN y un segmento no codificante de cerca de 1000pb denominado región control (denominada región rica en A-T en invertebrados y *D-loop* en vertebrados), que inicia la replicación y transcripción (Taberlet 1996).

La tasa de mutación del ADN mitocondrial en vertebrados es 5 a 10 veces más veloz que el ADN nuclear (Arif *et al.* 2011; Palumbi y Baker 1996), además no recombina durante la meiosis (Wu *et al.* 2003; Ramey 1995; Allendorf *et al.* 2012), lo que permite apreciar los linajes maternos

en la población de estudio. Lo anterior permite valorar las diferencias nucleotídicas entre genomas mitocondriales como un reflejo de las distancias evolutivas que los separan (Toro *et al.* 2009). Dada su tasa de mutación, su herencia uniparental y al alto polimorfismo entre especies, es posible utilizar a la variación genética mitocondrial para identificar estructura entre poblaciones de una especie, y diferenciación entre dos taxa relacionados (Hedrick y Miller 1992), así como la determinación preliminar de unidades de manejo en conservación, mejorando también la comprensión de aspectos de la biología de la especie (Frankham *et al.* 2010).

El tamaño efectivo genético de la población en loci mitocondriales ( $N_e = \frac{N_{ef}}{2}$ , donde  $N_{ef}$  indica el tamaño efectivo de las hembras) es menor que en los nucleares ( $\frac{N_e}{4}$ ) debido a su naturaleza haploide (Hedrick 2011). Por tanto, la deriva génica actúa con mayor fuerza en ellos (Avice 2004). Así, las poblaciones separadas durante un periodo de tiempo corto, pueden mostrar haplotipos mitocondriales distintos (Palumbi y Baker 1996).

Existen algunas desventajas en el uso de marcadores mitocondriales. La falta de recombinación promueve que se comporte como un solo locus genético, pues los genes que lo conforman están ligados en una sola entidad transmitida por completo a la progenie (Palumbi y Baker 1996). Este ligamiento disminuye la confianza al detectar cambios significativos estructurales, espaciales o temporales en una población e incrementa la incertidumbre en la historia genética de una población, especie o género.

Tampoco es posible detectar flujo génico paterno entre las poblaciones (Palumbi y Baker 1996), por ello para complementar la información obtenida con estos marcadores es importante incluir otros marcadores, tales como los nucleares.

#### Región control

En la mitocondria existe una región no codificante conocida como región control (RC) (Figura 7), debido a su papel en la replicación y transcripción del ADN mitocondrial (Arif *et al.* 2011). Esta región presenta un fragmento conservado, y en sus extremos se encuentran dos regiones hipervariables, estos bloques pueden evolucionar a una tasa 4 a 5 veces más veloz que el resto de la mitocondria (Taberlet 1996).

#### NADH subunidad 2

Esta región es codificante y se encuentra encargada de transferir electrones durante la cadena respiratoria. En comparación con otras regiones como 12S y 16S rADN, los genes codificantes de proteínas evolucionan mucho más rápido, por ello se consideran como marcadores

poderosos para inferir procesos evolutivos en niveles jerárquicos de familia, género o especie(Arif *et al.* 2011) (Figura 7).

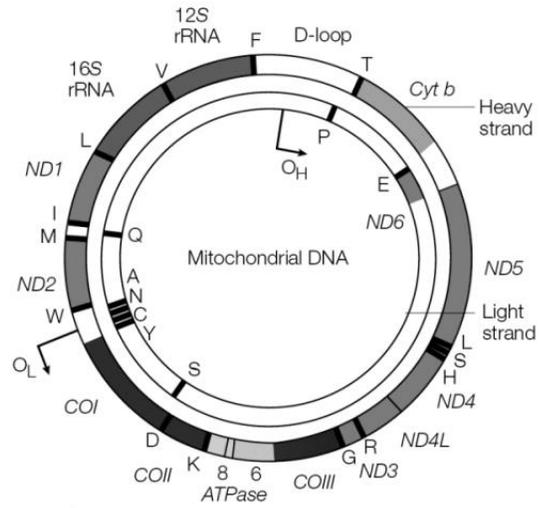


Figura 7. Distribución de genes mitocondriales en humanos (Taylor y Turnbull 2005).

### 3 Antecedentes

La genética de poblaciones y genética de la conservación de *O. canadensis* ha sido estudiada en otros trabajos, pero hay pocos en relación a la variación genética en *O. c. weemsi*, y en las otras subespecies de México.

En la especie *O. ammon* de Mongolia, Tserenbataa *et al.* (2004) encontraron alta variación haplotípica a nivel mitocondrial (17 haplotipos en 71 individuos), con un solo marcador (ND5), así como flujo génico elevado en la especie, a diferencia de la especie *O. canadensis*, en la que la mayoría de los análisis indican una baja diversidad (7 haplotipos en 124 individuos en región control), así como migración limitada entre poblaciones (Boyce *et al.* 1999). Sin embargo, en análisis con marcadores nucleares (MHC y microsátélites) en *O. canadensis* se identificó una diversidad mucho mayor (Boyce *et al.* 1997). Pero esta diversidad se ha mermado en algunas subespecies (Luikart y Allendorf 1996).

En *O. canadensis*, Gutiérrez-Espeleta *et al.* (2000) revelaron una cantidad sustancial de variación genética, en 13 poblaciones de la zona sur-oeste de Estados Unidos, y encontraron una correlación de la distancia geográfica con la distancia genética más pronunciada en las poblaciones de desierto que aquellas de montaña. Algo que podría atribuirse a que las poblaciones de la montaña tienen un mayor tamaño poblacional, una tasa de flujo génico más alta, o a similitudes entre poblaciones remanentes de la colonización postpleistocénica. También en la zona Sur-Oeste de Estados Unidos y en Baja California se detectaron bajos niveles de variación genética (10 haplotipos), que disminuían aún más en la zona sur del muestreo. Éste fenómeno se atribuyó principalmente a efectos del Pleistoceno más que a factores antropogénicos (Ramey 1995). Otro estudio (Epps *et al.* 2005), detectó disminución del flujo génico entre poblaciones de California, a causa de la barrera física que implican las autopistas.

Un estudio comparativo de Whittaker *et al.* en 2004 encontraron que una población fundada con 20 individuos provenientes de una sola área, poseía menor diversidad genética y mayor endogamia que aquella fundada con individuos provenientes de distintas zonas. La alta diversidad hallada en el segundo caso también se localizó en una población ubicada en un

rancho en Coahuila, México, fundada con individuos de distintos lugares (Durán-Álvarez 2013).

En México se ha detectado una baja diversidad genética en las poblaciones de la especie (Rodríguez-Rodríguez 2008). Por su parte Hedrick *et al.* (2001) realizaron un análisis de diversidad en Isla Tiburón, en donde la diversidad existente era baja en comparación a otras poblaciones de la misma subespecie, proponiendo un posible efecto fundador en la isla. Gasca-Pineda *et al.* (2013) reafirmaron estos resultados, además de plantear la disminución del tamaño efectivo relacionado a un cuello de botella, y realizan también la recomendación de no usar esta población como única fuente de fundadores para repoblar otras áreas.

### **3. 1 Relevancia del trabajo**

En este trabajo se pretende incrementar la información de diversidad genética en las poblaciones de *O. c. weemsi*, así como observar si existe un patrón de variación y estructuración genética que se asemeje a los mencionados anteriormente. Así como cuantificar la variación en la población fundada en Isla del Carmen.

De esta forma, se espera coadyuvar en la elaboración de planes de manejo en Baja California Sur que involucren no sólo datos ecológicos, sino también de variación genética, incrementando con ello la probabilidad de éxito de la conservación del borrego cimarrón en México.

## 4 Objetivos

### 4.1 General

Analizar la variación y estructura genética de las poblaciones de *Ovis canadensis weemsi* en Baja California Sur.

### 4.2 Particulares

- Determinar la diversidad genética de *O. c. weemsi* a partir de dos marcadores moleculares mitocondriales (región control y NADH2), en Baja California Sur e Isla del Carmen.
- Estudiar la posible estructuración genética en la subespecie y proponer las posibles causas de la misma.
- Estudiar la historia demográfica de la subespecie.
- Analizar genéticamente a la población introducida en Isla Carmen.

### Hipótesis

Dada la historia evolutiva del borrego cimarrón:

1. Se espera que la subespecie *O. c. weemsi* presente baja variación genética, con una continua disminución hacia el sur de la península de Baja California.
2. Para la población de Isla del Carmen, se espera encontrar un marcado efecto fundador y diversidad genética casi nula.

## 5 Método

### 5.1 Área de estudio

El área de estudio se ubica en Baja California Sur (BCS) y en la Isla del Carmen en el Golfo de California, México. Este estado está considerado entre los 10 del país con mayor riqueza de vertebrados (Llorente-Bousquets y Ocegueda 2008).

Baja California Sur se caracteriza por poseer una sierra paralela a la costa, que está formada por rocas de origen volcánico, conocida como Sierra de la Giganta. Presenta una altitud media de 600 msnm y en las zonas bajas presenta clima seco desértico. La vegetación se clasifica como matorral xerófilo (comparable a la categoría “desierto” propuesto por Leopold (1950), sin embargo abarca el “chaparral”, así como una parte de las comunidades vegetales de “mezquite-pastizal” y “matorral tropical árido”) y cubre la mayor parte de territorio de Baja California Sur (Rzendowski 2006).

En las llanuras y desiertos la vegetación dominante consta de cardón (*Pachycereus pringlei*), mezquite (*Prosopis juliflora*, *P. laevigata*), chirinola (*Stenocereus eruca.*), agave (*Agave spp.*) y gobernadora (*Larrea tridentata*); y en la sierra principalmente bosques de pino y encino. La macrofauna terrestre está compuesta por venado bura (*Odocoileus hemionus*), borrego cimarrón (*Ovis canadensis*), gato montés (*Linux rufus*), y muchas aves migratorias (Cariño y Monteforte 2008; BCS 2013). En cuanto a la hidrografía, los afluentes son estacionarios, presentando caudales que desembocan principalmente al Pacífico sólo en época de lluvia (BCS 2013).

En la parte norte del Estado de Baja California Sur se ubica la Reserva de la Biósfera El Vizcaíno (SEMARNAP 2000a), que es una zonas de gran diferenciación, y presenta una gran cantidad de mamíferos endémicos. Además funciona como barrera entre el norte y sur de la península (Orr 1960).

Por su parte, la Isla Carmen está localizada en el Golfo de California, a 14 km del Municipio de Loreto, en Baja California Sur y a 350km de La Paz (Figura 6 y 8). Se conforma por una serie de mesetas y sierras de origen volcánico que alcanzan hasta los 479 msnm. Del total de su superficie, el 80% consiste en cadenas montañosas de origen volcánico (Jimenez *et al.* 1996). Su vegetación es típicamente desértica debido a la escasez de agua, y corresponde a la del Desierto Sonorense, muy semejante a la del hábitat continental del borrego cimarrón. La

isla carece de grandes mamíferos nativos, contando sólo con cuatro especies de mamíferos pequeños: *Lepus californicus*, *Perognathus spinatus*, *Peromyscus eva*, y *Neotoma lepida* (Jimenez *et al.* 1996).

Geológicamente la península no ha sufrido cambios considerables desde el Plioceno temprano (5.3-3.6 millones de años) (Orr 1960), o desde el hundimiento de la península a en la zona de Santa Rosalía (Lindell *et al.* 2006), y al ser el Golfo de California una barrera geográfica, es de esperarse que muchos mamíferos en el territorio tengan un origen norteño, pues la conexión con el continente es anterior a la llegada de algunos mamíferos (como el borrego cimarrón). Las regiones desérticas fueron fuertemente afectadas durante el Pleistoceno, como resultado de las fluctuaciones climáticas entre los periodos glacial e interglacial. Al parecer en los periodos de máximo glacial, no había desierto; y fue la expansión post glacial del desierto, la responsable de la invasión relativamente reciente por especies del noreste (Orr 1960).

## **5. 2 Obtención de material biológico**

Se analizaron 106 muestras provenientes de diversas localidades de Baja California Sur. Estas fueron obtenidas mediante el apoyo de la Delegación Federal de la SEMARNAT, quienes colectaron las quijadas de los individuos utilizados para aprovechamiento cinegético, y posteriormente fueron enviadas a la Dirección General de Vida Silvestre en el Distrito Federal.

Las muestras fueron colectadas desde octubre del 2009 hasta mayo del 2012 en nueve localidades de Baja California Sur: El Vizcaíno, Nuevo Centro de Población Ejidal (N. C. P. E). Lic. V. Bonfil, San Javier, Santo Domingo, Loreto, Isla del Carmen, N. C. P. E. Ley Federal de Agua, Tepentú y San José de la Noria (Figura 8).

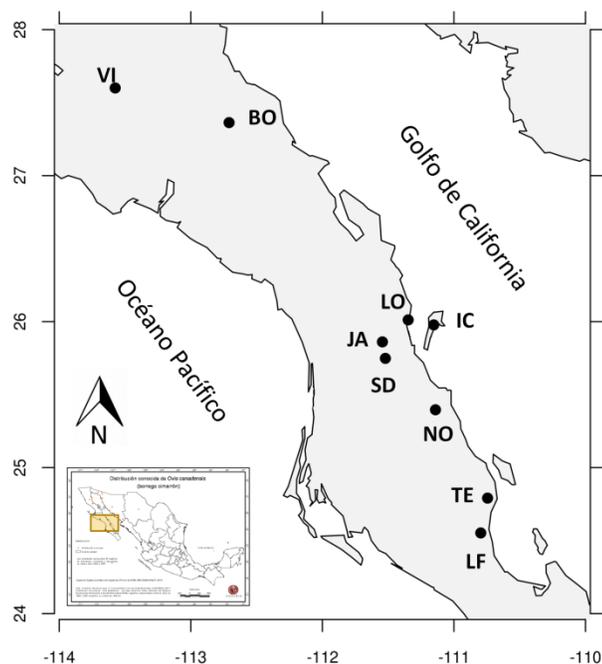


Figura 8. Mapa de las localidades de origen de las muestras. El Vizcaíno (VI), N. C. P. E. Lic. V. Bonfil (BO), Loreto (LO), San Javier (JA), Santo Domingo (SD), Isla del Carmen (IC), San José de la Noria (NO), Tepentú (TE), N. C. P. E. Ley Federal de Agua (LF).

### 5.3 Extracción de ADN

De las mandíbulas adquiridas se obtuvo tejido muscular, al que se le realizaron las extracciones mediante protocolos de fenol-cloroformo y mediante Kit de Quiagen (E.U.A.) (Anexo 11.1 Protocolo de extracción de ADN). Los protocolos de fenol-cloroformo utilizados inicialmente fueron diseñados para extracción de ADN en tejido óseo, sin embargo fue adaptada con la primer parte del protocolo para Kit de Quiagen, utilizando el proceso de hidratación indicado por el fabricante.

### 5.4 Amplificación y secuenciación

Para la identificación y detección de polimorfismos, así como la diversidad y variación génica se recurrió a la amplificación de dos regiones mitocondriales por medio de la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), utilizando 3 pares (*forward* y *reverse*) de oligonucleótidos/primers degenerados. Los primeros dos ubicados en el *D-loop* (región

control), y el tercero en la región ND2 (Tabla 1). Esto se llevó a cabo siguiendo perfiles de termociclado (Anexo 11. 2 Tabla del programa de termociclado para cada marcador utilizado), y para la amplificación de ND2 el perfil sólo varió en el número de ciclos, que fue disminuido de 32 a 30.

Una vez obtenido el producto de PCR de cada fragmento, se verificó la longitud de los mismos mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% con un Buffer TAE 0.5x, teñido con bromuro de etidio y posteriormente observado mediante su exposición a luz ultravioleta.

*Tabla 1. Secuencias de primers y temperaturas de alineación usadas para la amplificación y secuenciación de regiones mitocondriales en O. c. weemsi.*

Región	Primer	Secuencia (5'-3')	t° de alineación	Referencia
Región control	MIT1	F-AACCTCCCTAAGACTCAAGG	54 y 63 °C	Boyce <i>et al.</i> 1999
	R1 435	R-CRGGATACGCATGTTGACTRGRAC	54 y 63 °C	
Región control	F3 144	F-AAARCACACCACCACCCACGGAC	54 y 63 °C	Gasca-Pineda <i>et al.</i> en preparación
	R3	R-ACAATGAATGGGCCCGGAGCGA	54 y 63 °C	
NADH	ND2	F-GGCCAATGAACCGTAATAAAA	54 y 63 °C	Rodríguez-Rodríguez <i>et al.</i>
		R-TGGCATAAATCCTGATAGTGG	54 y 63 °C	en preparación

La calidad de las secuencias generadas fue evaluada con Consed Ver. 23.0 (Gordon *et al.* 1998), así como los sitios variables, que fueron corroborados al inspeccionar manualmente las secuencias y sus cromatogramas correspondientes, a continuación se realizó el agrupamiento de los grupos de secuencias iguales. Se realizó la alineación de las secuencias con Clustal X 2.0.11 (Larkin *et al.* 2007) y un corte de secuencias al inicio y al final con el software BioEdit 7.1.3.0 (Hall 1999), para eliminar la variación producida por artefactos de secuenciación. El concatenado de los fragmentos se realizó mediante DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009).

## 5. 5 Análisis de datos

### 5. 5. 1 Diversidad Genética

Para estimar la variación génica se obtuvieron los índices con el programa DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009).

Para estimar la proporción de loci polimórficos (P) es necesario contar los loci analizados y de ellos estimar la proporción de loci con polimorfismos, es decir:

$$\hat{P} = \frac{x}{m}$$

donde  $x$  es el número de sitios polimórficos en una muestra de  $m$  loci (Hedrick 2011).

El polimorfismo nucleotídico determina el número de sitios nucleotídicos que son variables, considerando el número de sitios nucleotídicos segregantes ( $S$ ) entre el total de sitios nucleotídicos ( $N$ ) (Hedrick 2011):

$$\hat{P}_s = \frac{S}{N}$$

La diversidad génica es la probabilidad de que dos alelos escogidos al azar dentro de la población sean distintos (Toro *et al.* 2009), y puede ser calculado de la siguiente manera (inicialmente  $H$ , pero modificado a  $H_d$  por ser haplotipos de mitocondria - diversidad haplotípica):

$$H_d = \frac{2n(1 - \sum P_i^2)}{2n - 1}$$

donde  $n$  es el número de individuos muestreados y  $P_i$  es la frecuencia del  $i$ -ésimo haplotipo. Este análisis se realizó por medio de DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009) y se calculó para cada uno de las poblaciones y para el total de las mismas.

La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), calculada también con DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009), es número promedio de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias (Nei 1987).

$$\pi = \frac{n}{n - 1} \sum_{ij} p_i p_j \pi_{ij}$$

Donde  $p_i$  y  $p_j$  son las frecuencias de las secuencias examinadas y  $\pi_{ij}$  la proporción de diferencias nucleotídicas entre ambas secuencias (Nei 1987).

La  $\theta$  de Watterson provee una medida de sitios segregantes. Fue calculada con DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009) mediante la fórmula de Nei (1987).

$$\theta (S) = \frac{pn}{A}$$

Donde  $A = 1 + 1/2 + \dots + (n - 1)^{-1}$  y  $p_s = S_n/mT$ , siendo  $S_n$  el número de sitios polimórficos por secuencia y  $mT$  el número de nucleótidos inspeccionados (Nei 1987).

Curva de enrarecimiento de la muestra

Dado que la diversidad alélica es altamente dependiente del tamaño de muestra (Toro *et al.* 2009), se han implementado métodos como la rarefacción, que corrige el tamaño de muestra desigual entre las muestras (Gart *et al.* 1982). Sin embargo no debemos olvidar que este método reduce la riqueza observada y debe ser aplicado solamente cuando hay diferencias en los tamaños de muestra (Toro *et al.* 2009). Para evaluar la dependencia de la riqueza alélica del tamaño de muestra se realizó una curva de rarefacción obtenida con el paquete Vegan ver. 2.0-10 (Oksanen *et al.* 2013) del programa estadístico R (Development Core Team 2008). Este método reduce la riqueza alélica aleatoriamente en todas las muestras al tamaño de las más pequeñas, de esta manera refleja la riqueza alélica esperada dados los tamaños de muestra más pequeños (Hedrick 2011), estimando el número de haplotipos de acuerdo con el tamaño de la muestra y su frecuencia, permitiendo comparar los niveles de diversidad de muestras de tamaño diferente.

### 5. 5. 2 Estructura, diferenciación y flujo génico

Otro estimador evaluado con el programa DNAsp 5.10 (Librado y Rozas 2009) fue  $F_{ST}$ , utilizando la fórmula:

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_w}{H_b}$$

Donde  $H_w$  es el promedio de las diferencias pareadas entre distintas secuencias muestreadas de la misma población, y  $H_b$  es el número promedio de las diferencias pareadas entre las secuencias muestreadas de dos subpoblaciones, asumiendo un modelo de sitios infinitos. (Hudson *et al.* 1992). Éste estimador nos habla sobre la diferenciación genética entre distintas poblaciones, y donde  $H_b$  representa a  $H_T$ , que nos indica la proporción total de la

cantidad de variación genética dentro de una especie, y  $H_w$  a  $H_s$  que se refiere a las diferencias genéticas entre individuos dentro de una población (Allendorf *et al.* 2012). La  $F_{ST}$  es un estadístico apropiado para modelos de poblaciones tipo *stepping stone* (modelo unidimensional en que el arreglo espacial y el flujo génico de las poblaciones es restringido a las poblaciones adyacentes (Hedrick 2011)), y sistemas donde la tasa de migración excede la tasa de mutación, como el caso de la dispersión y colonización de los cimarrones de desierto (Epps *et al.* 2005).

La migración ocurrida entre poblaciones evita la especiación de las mismas, ya que homogeniza las frecuencias alélicas, y si por el contrario una población se aísla, ocurre el proceso de especiación. La tasa de migración se expresa como la fracción de migrantes por generación en una población (Lemey *et al.* 2010). De la fórmula anterior de  $F_{ST}$  se estimó el número efectivo de migrantes por generación  $Nm$ , utilizando la fórmula

$$F_{ST} = \frac{1}{(1 + 2Nm)}$$

Donde  $N$  es el tamaño poblacional y  $m$  la tasa de migrantes efectivos en organismos haploides. Esta ecuación supone equilibrio entre deriva génica y migración.

Utilizando el software BAPS v. 6.0 (Corander *et al.* 2013) se evaluó la estructuración genética en las poblaciones y en los individuos, realizando un *clustering* espacial de grupos. Este análisis puede considerar a las poblaciones como unidades de muestreo en lugar de los individuos, estableciendo poblaciones con diferentes frecuencias alélicas en lugar de dividir a los individuos basados en el equilibrio de Hardy-Weinberg. El análisis también supone un modelo espacial en el que la estructura dentro de un área de muestreo depende de las áreas adyacentes (Rosetti y Remis 2012). El análisis fue ejecutado con un número límite de grupos (K) de 2-7.

Se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA por sus siglas en inglés) con el programa Arlequin ver. 3.5 (Excoffier *et al.* 2006) para estimar la variación entre y dentro de los grupos. Las poblaciones que conforman la muestra se categorizaron en 3 grupos (Tabla 2A) debido a la organización geográfica que presentaron, distinguiendo las zonas de acuerdo a un gradiente norte-sur. Con la finalidad de comprobar si la variación depende de un proceso de colonización norte-sur, o si por la distribución de los sistemas de serranías (Las Vírgenes, La

Giganta y El Mechudo) que comparten las poblaciones. Se realizó un segundo análisis utilizando los grupos formados por el análisis con BAPS v. 6.0 (Corander *et al.* 2013). Para la significancia de estas se realizaron 1000 permutaciones. La población de Isla del Carmen fue excluida del análisis debido a que su fundación fue antrópico, y por lo tanto no reflejaría el patrón natural de su distribución.

*Tabla 2. Agrupación de poblaciones para el análisis de AMOVA.*

*A) Agrupamiento según la distribución geográfica B) Agrupamiento según BAPS*

Grupo 1	Zona norte (Las Vírgenes)	Vizcaíno Bonfil
Grupo 2	Zona centro (La Giganta)	San Javier Santo Domingo Loreto SJ la Noria
Grupo 3	Zona Sur (El Mechudo)	LFA Tepentú

Grupo 1	Vizcaíno
Grupo 2	Bonfil
Grupo 3	San Javier Santo Domingo Loreto SJ la Noria LFA Tepentú

También se utilizó un Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA por sus siglas en inglés), con la finalidad de realizar agrupamientos homogéneos geográficamente que maximizan la varianza genética, permitiendo identificar barreras geográficas responsables de diferenciación, esto sin conocer datos a priori, o que las poblaciones se encuentren en equilibrio de Hardy-Weinberg o que existan genes ligados; utiliza sólo las distancias geográficas y genéticas (Dupanloup *et al.* 2002). El análisis fue realizado con SPADS 1.0 (Dellicour y Mardulyn 2014). Los valores de los estadísticos  $\Phi$  fueron calculados mediante 10000 iteraciones con 20 repeticiones, realizadas con un mínimo de 2 grupos y un máximo de 8 grupos (k) para encontrar el número de poblaciones homogéneas, utilizando  $\Phi_{CT}$  (variación entre grupos formados) como el valor indicador para seleccionar el número de grupos formados. Lo que permite seleccionar las agrupaciones formadas con los valores de  $\Phi_{CT}$  más altos.

### 5. 5. 3 Aislamiento por distancia

La prueba estadística Mantel (1967) correlaciona dos matrices de datos, calculando la relación entre las mismas y posteriormente permuta estos resultados, evaluando la significancia de los mismos. Utilizando la matriz de diferencias de pares de bases del programa Arlequin ver. 3.5 (Excoffier *et al.* 2006) y la matriz de distancias geográficas entre cada población, se buscó evidencia de aislamiento por distancia entre las poblaciones de la península. Isla del Carmen fue excluida del análisis debido a que no es una población natural. El análisis se realizó en R (Development Core Team 2008) mediante el paquete Vegan ver. 2.0-10 (Oksanen *et al.* 2013).

### 5. 5. 4 Demografía histórica

La prueba de  $D$  de Tajima, mide las diferencias entre el número promedio de diferencias nucleotídicas entre dos secuencias conocido como  $\pi$ , y el número total de sitios segregantes ( $\theta$ ), ambas medidas de diversidad nucleotídica (Hedrick 2011). Se espera que bajo un modelo Wright-Fisher,  $\pi$  y  $\theta$  tengan valores semejantes, es decir, la  $D$  de Tajima resulta en un valor de cero. Si por otro lado el resultado es positivo, se refiere a un exceso de alelos de frecuencia intermedia, indicando un cuello de botella moderado, estructura y/o selección balanceadora. En cambio si el resultado es negativo, existe un exceso de alelos en baja frecuencia, y puede ser resultado de una expansión poblacional o selección purificadora o direccional (Hedrick 2011). Este análisis se realizó mediante Arlequin ver. 3.5 (Excoffier *et al.* 2006).

La inferencia de tamaños poblacionales pasados es posible a partir de datos de variación genética (Rogers y Harpending 1992). La prueba de distribución de *Mismatch*, se realizó usando el programa Arlequin ver. 3.5 (Excoffier *et al.* 2006). Esta prueba compara la frecuencia de las mutaciones distintas observadas entre haplotipos pareados en una población, contra aquellos esperados bajo simulaciones basadas en los datos. Es también conocida como la distribución de las diferencias de pares de bases (Hamilton 2009). La distribución bimodal de este análisis es característica de genealogías en poblaciones con un  $N_e$  constante en el pasado, por el contrario aquellas poblaciones con un rápido crecimiento o contracción del  $N_e$  poblacional suelen tener una distribución unimodal (Rogers y Harpending 1992).

Calcular el tamaño efectivo de una población es útil para conocer el tamaño de la población que se reproduce. Cuando la población procede de un pequeño número de

individuos, es posible que se presente un cuello de botella o un efecto fundador, por lo que es posible que existan cambios en la variación genética de la nueva población con respecto a la ancestral, produciendo en menor heterocigosis y menos alelos en la primera. Por ello se utilizó una aproximación sencilla a este efecto utilizando la siguiente fórmula (4.17a en Hedrick 2011):

$$N_e = \frac{H_t}{2(H_t - H_{t+1})}$$

Donde  $H_t$  y  $H_{t+1}$  son las heterosigosis en la población original y el grupo formado respectivamente (Hedrick 2011). Aunque esta aproximación sea para marcadores nucleares, es útil para un acercamiento inicial al tamaño efectivo poblacional de hembras con que fue fundada la Isla del Carmen. También es posible tener una aproximación del total de la población considerando el número de fundadores hembras y machos, este cálculo se muestra en la siguiente fórmula (4.7a en Hedrick 2011):

$$N_e = \frac{4N_f N_m}{N_f + N_m}$$

Donde  $N_f$  es el número de hembras introducidas y  $N_m$  el de machos.

### 5. 5. 5 Relaciones genealógicas

Se realizó una red de haplotipos utilizando el software TCS 1.21 (Clement *et al.* 2000), con el fin de observar las distancias entre los haplotipos encontrados. El análisis evalúa por medio de parsimonia estadística (Templeton *et al.* 1992) la relación de genealógica entre los haplotipos y la probabilidad de que alguno de ellos sea el grupo externo.

El método *Neighbor-Joining* realizado con MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011) construye un árbol por medio de la búsqueda secuencial de pares de OTUs (unidades taxonómicas operacionales) conectados por un solo nodo interno, reduciendo el tamaño del árbol, en lugar de agrupar a los más relacionados, como el UPGMA. El largo de la rama que une a los “vecinos” a un nodo, es obtenido de la distancia promedio de todos los OTU’s y el grupo correspondiente a cada rama, restando la distancia promedio de los OTU’s restantes. Este proceso se repite uniendo dos OTU’s e introduciendo siempre la rama interna más corta (Lemey *et al.* 2010). Se incluyeron secuencias de *O. aries* y *O. c. canadensis* como grupos

externas obtenidas de la base de datos Gene Bank (*O. canadensis* JN181255 y *O. aries* KJ954145).

El método de máxima verosimilitud realizado con MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011) se usó con los modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaron a los datos, y se obtuvieron mediante el programa jModelTest ver. 0.1.1 (Posada 2008). MEGA 5.2.1 realiza una búsqueda del árbol más verosímil mediante la exploración de los árboles posibles y calcula el soporte de cada rama mediante remuestreo (*bootstrap*) (Tamura *et al.* 2011), que en este caso fue de 10,000 replicaciones. Este programa utiliza un árbol de *Neighbor-Joining* inicialmente, sobre el cuál realiza la búsqueda de máxima verosimilitud. El modelo utilizado fue el general reversible, de distribución gamma y de sitios evolutivamente invariables (GTR+G+I).

## 6 Resultados

### 6.1 Diversidad genética

Se amplificaron 106 secuencias de 1013 pares de bases (pb), obtenidas del concatenado de los dos marcadores mitocondriales ND2 y Región control. Se identificaron un total de 44 sitios segregantes (*S*) que produjeron 10 haplotipos (*h*) y fueron nombrados con las letras de la A a la J. La diversidad haplotípica (*Hd*) fue de 0.700, mientras la diversidad nucleotídica (*Pi*) de 0.00406 y la *Theta-W* de 0.00830.

Para los análisis posteriores se utilizaron 99 individuos ya que 7 de ellos no cuentan con información de su localidad de procedencia. Se obtuvieron valores de diversidad genética para cada población, y para el total. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 3. Índices de diversidad genética entre las poblaciones de *O. c. weemsi*.

Población	Individuos	N. sitios segregantes ( <i>S</i> )	N. Haplotipos	Diversidad haplotípica ( <i>Hd</i> )	Diversidad nucleotídica ( <i>Pi</i> )
Vizcaíno	4	0	1	0	0
Bonfil	16	26	4	0.72500	0.00525
San Javier	13	11	4	0.61538	0.00311
Loreto	10	11	4	0.53333	0.00248
Tepentú	10	9	2	0.35556	0.00316
Santo Domingo	8	10	4	0.64286	0.00264
Ley Federal de Aguas	11	14	4	0.49091	0.00337
San José de la Noria	4	0	1	0	0
Isla del Carmen	23	0	1	0	0
Total	99	44	10	0.71655	0.00392
Total sin Isla del Carmen	76	44	10	0.792	0.00491

La diversidad de las poblaciones del Vizcaíno, San José de la Noria e Isla el Carmen es de cero, pues no presentaron sitios segregantes, es decir mostraron un sólo haplotipo. Por su parte, la diversidad haplotípica más alta se encontró en Bonfil, seguida de Santo Domingo y San Javier (Tabla 3).

Se realizó un análisis de diversidad genética incluyendo únicamente la región control, con el fin de comparar la diversidad genética con estudios realizados anteriormente. Las comparaciones se muestran en la Tabla 4.

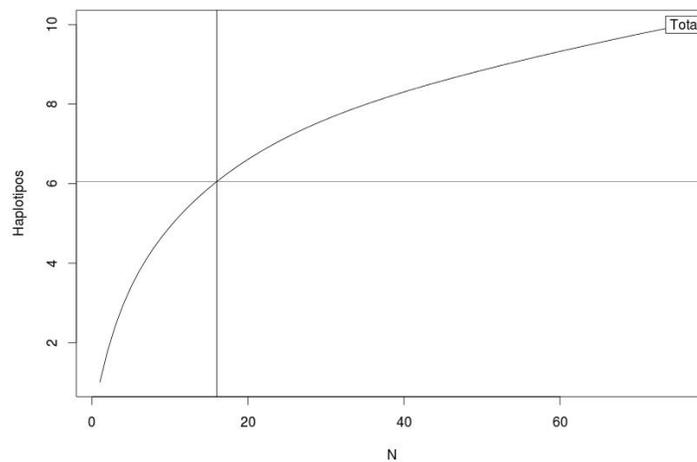
*Tabla 4. Diversidad genética en región control mitocondrial.*

Población	Subespecie	N. secuencias usadas /N.pb del alineamiento	Número de Haplotipos	Diversidad haplotípica ( <i>Hd</i> )	Diversidad nucleotídica ( <i>Pi</i> )	Referencia
BCS	<i>O. c. weemsi</i>	106/503	7	0.449	0.00575	Presente estudio
Sur de California	<i>O. c. nelsoni</i>	124/515	7	-	-	Boyce, 1999
Rancho Pilares, Coahuila	<i>O. c. mexicana</i>	58/550	3	0.440	0.00714	Durán-Álvarez, 2013
Isla Tiburón	<i>O. c. mexicana</i>	63/550	2	0.125	0.00249	Gasca-Pineda et al. 2013
Xinjiang, China	<i>O. aries</i>	48/531	29	0.9619	0.0151	Chen et al. 2006

En la Tabla 4 observamos que el número de haplotipos en la subespecie *O. c. weemsi* es igual al de *O. c. nelsoni* (de California, Estados Unidos), aunque se desconoce si este resultado también se presenta en las diversidades haplotípicas y nucleotídicas (Tabla 4), pues Boyce (1999) no lo reporta. En México, al comparar con los únicos estimados reportados para este marcador (región control; Durán-Álvarez 2013 y Gasca-Pineda et al. 2013), se observa que el número de haplotipos en Baja California Sur es más elevado, aunque esto no se ve reflejado en la diversidad haplotípica ni nucleotídica. Como podemos observar la subespecie hermana *O. c. mexicana* (en Coahuila; Durán-Álvarez 2013) tiene mayor diversidad nucleotídica, y diversidad haplotípica semejante. Al realizar la comparación con una población doméstica de *O. aries*, la población de Baja California Sur (*O. c. weemsi*) presentó menor diversidad genética en la región control mitocondrial, y en general la especie *O. canadensis* presenta menor diversidad que *O. aries*.

Descartamos un sesgo por el muestreo, ya que no encontramos una correlación entre el tamaño de muestra y la variación genética encontrada. Sin embargo, debido a la distribución geográfica del muestreo y a la historia de la población, la comparación entre los estimados debe de ser cautelosa.

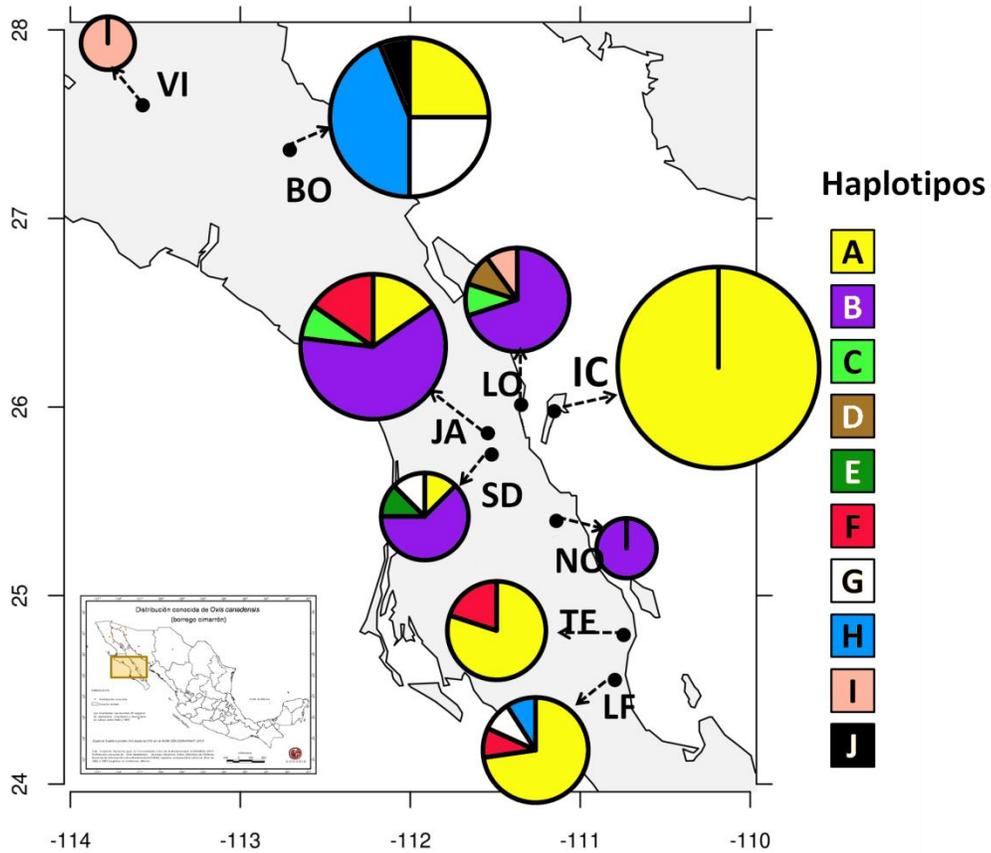
La población de Isla del Carmen tiene el número de muestra mayor (N=23) y presentó un solo haplotipo, por tanto, la variación encontrada no es un artefacto del tamaño de muestra. En este sentido un análisis de rarefacción de la muestra (Figura 9) soporta lo anterior, pues según este, debimos encontrar una mayor cantidad de haplotipos en ella.



*Figura 9. Curva de rarefacción para los tamaños de muestra. El número máximo de muestra tomado es de 16, que representa 6 haplotipos. Eje x: Número de individuos; eje Y: número de haplotipos.*

En la Figura 10 se muestra el mapa de la distribución y frecuencia de los haplotipos en el área de estudio. El haplotipo A, en amarillo, es el más abundante en la población, ocupando el 47% del total, y se encuentra presente en un mayor número de poblaciones (6 poblaciones), además de ser el más ampliamente distribuido. Al eliminar a la Isla el Carmen del muestreo, el haplotipo A posee el 30% de abundancia, viéndose ligeramente sobrepasado por el haplotipo B, en morado, que se encuentra con un 32% de abundancia. En contraste, al incluir a Isla del Carmen la abundancia del haplotipo B es del 24%. Sin embargo, éste tiene un área de distribución restringida al centro que corresponde a la serranía de La Giganta. Es posible observar que los haplotipos D (café) y E (verde fuerte) son privados, y se encuentran sólo en

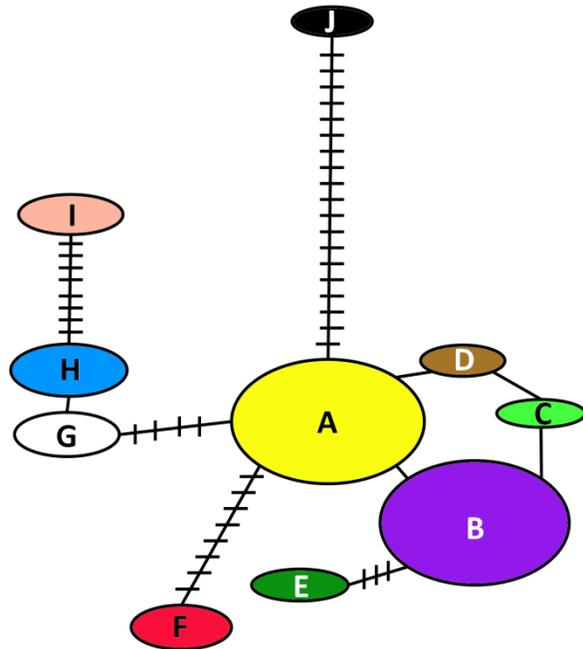
Loreto y Santo Domingo respectivamente y los ocho haplotipos restantes se comparten en al menos dos poblaciones.



*Figura 10. Distribución y abundancia de haplotipos en el área de estudio. El tamaño de la gráfica de pay corresponde al tamaño de muestra en cada zona. Vizcaíno (VI), Bonfil (BO), Loreto (LO), San Javier (JA), Santo Domingo (SD), San José la Noria (NO), Tepentú (TE) y Ley Federal de Aguas (LF).*

La red de haplotipos generada con TCS se muestra en la Figura 11. El haplotipo J (en negro) es el de mayor número de pasos mutacionales (19 mutaciones), con respecto al haplotipo más abundante (A, en amarillo). Sólo dos haplotipos (D, en café y B, en morado) se encuentran separados por un paso mutacional del centro de la red, y el haplotipo C (verde brillante) por dos mutaciones, los demás tienen 5 o más pasos mutacionales de distancia.

Figura 11. Red de Haplotipos. El tamaño del óvalo representa el tamaño de muestra. Las líneas transversales indican los pasos mutacionales entre cada haplotipo ó haplotipos hipotéticos no encontrados.



## 6. 2 Estructura, diferenciación y flujo genético

El análisis de diferenciación genética del total de la muestra dio una  $F_{ST}$  de 0.54516, mientras el estimado del número de migrantes por generación ( $Nm$ ) en el equilibrio en el total de las poblaciones fue de 0.42 (Hudson, Slatkin and Maddison 1992), sugiriendo movimientos muy bajos entre poblaciones, y una diferenciación relativamente alta.

El análisis de estructura genética por poblaciones realizado con el software BAPS, indicó que la mayor probabilidad de agrupaciones resultaba al dividir a la muestra total en tres grupos: a) Vizcaíno, b) Bonfil y c) el resto de las poblaciones. Mostrando mayor diferenciación entre Vizcaíno y Bonfil con el resto del grupo (Figura 12).

La prueba de AMOVA indica que la mayor parte de la variación (58.95 %) se encuentra dentro de las poblaciones, y menos entre ellas, o entre los grupos formados de acuerdo a la ubicación geográfica de las poblaciones (Tabla 5A). Sin embargo los resultados obtenidos al agrupar las poblaciones según los resultados obtenidos mediante BAPS, incrementa la cantidad variación presente entre grupos formados (50.62%) (Tabla 5B). Aunque en ambas agrupaciones la variación dentro de cada población es considerablemente alta.

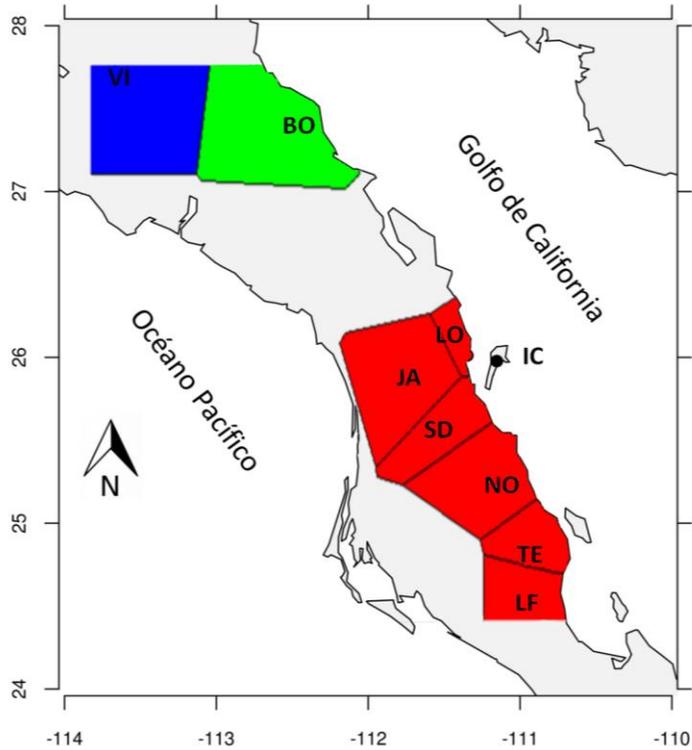


Figura 12. Agrupamiento genético espacial entre poblaciones para K= 3. Vizcaíno (VI), Bonfil (BO), San Javier (JA), Loreto (LO), Tepentú (TE), Sto. Domingo (SD), Ley Federal de Aguas (LF), Sn. José de la Noria (NO).

Tabla 5. Porcentajes de variación con tres niveles jerárquicos obtenidos por medio del AMOVA. Tabla A: Grupos formados por su ubicación geográfica (diferentes serranías). Tabla B: Grupos formados de acuerdo a los resultados de BAPS.

A	% de Variación	Índices de Fijación
Entre grupos	21.91	FSC: 0.24513
Entre poblaciones dentro de grupos	19.14	FST: 0.41051
Dentro de poblaciones	58.95	FCT: 0.21909

B	% de Variación	Índices de Fijación
Entre grupos	50.62	FSC: 0.06999
Entre poblaciones dentro de grupos	3.46	FST: 0.54073
Dentro de poblaciones	45.93	FCT: 0.50617

Para la prueba de análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA por sus siglas en inglés) se eligió a la agrupación que optimizara la variación entre grupos (*PhiCT*, Tabla 6).

*Tabla 6. Índices Phi de diferenciación según SAMOVA. N= número de poblaciones consideradas. K= número de grupos formados por el programa. B= número de barreras propuestas. Al considerar N= 7 se eliminó a la población del Vizcaíno de los análisis y con N=6 se eliminó también a Bonfil, con el fin de observar algún patrón interno en los grupos.*

	N=8 K=2 B=1	N=7 K=2 B=2	N=6 K=2 B=1
PhiCT:	0.61625177	0.3756032	0.1774432
PhiST:	0.7159381	0.4148764	0.16170806
PhiSC:	0.2597701	0.062897824	-0.019129563

Al considerar 8 poblaciones se forman 2 grupos, colocando únicamente al Vizcaíno en el grupo 1, y el resto en el 2. Al excluir esta población del análisis, el siguiente agrupamiento se realiza entre Bonfil y el resto de las poblaciones; finalmente al excluir a Vizcaíno y Bonfil para distinguir la diferenciación dentro del grupo más grande, se agrupa a Loreto, San Javier, Santo Domingo y la Noria en el primer conjunto, y a Tepentú y Ley Federal de Aguas en el segundo grupo.

Cabe señalar que el valor de *PhiCT* más alto surge al formar sólo dos grupos que separen al Vizcaíno del resto de las poblaciones.

### **6. 3 Aislamiento por distancia**

La prueba de Mantel se realizó sin tomar en cuenta a la población de Isla del Carmen. Fue estadísticamente significativa ( $p = 0.0013$ ) con una  $r = 0.708$ , indicando una correlación positiva entre las variables de distancia génica ( $F_{ST}$ ) y geográfica (Km); es decir que nuestras poblaciones analizadas se diferencian mediante un patrón de aislamiento por distancia (Figura 13).

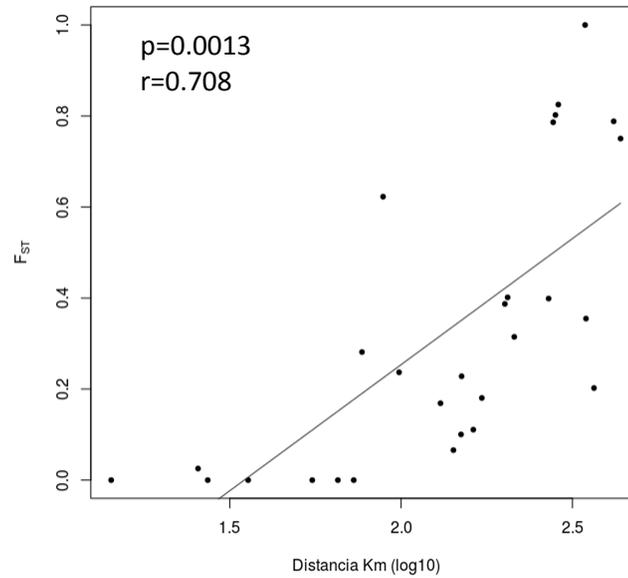


Figura 13. Prueba de aislamiento por distancia.

#### 6. 4 Demografía histórica

En el análisis de neutralidad obtuvimos una  $D$  de Tajima de -1.63444, que no tuvo significancia estadística ( $0.10 > p > 0.05$ ), por lo que realizamos una prueba de  $F$  de Fu y Li, que arrojó un valor de -2.81619 con una significancia de  $p < 0.05$ . Este resultado indica un exceso de alelos en baja frecuencia, lo que sugiere una expansión poblacional o selección direccional.

En la prueba de *Mismatch* encontramos un índice de rugosidad (variación alrededor de la curva) de 0.20042 que no fue significativo ( $p=0.504$ ), lo cual sugiere un comportamiento de expansión demográfica (Figura 14). Este resultado apoya lo obtenido mediante la  $D$  de Tajima y la  $F$  de Fu y Li.

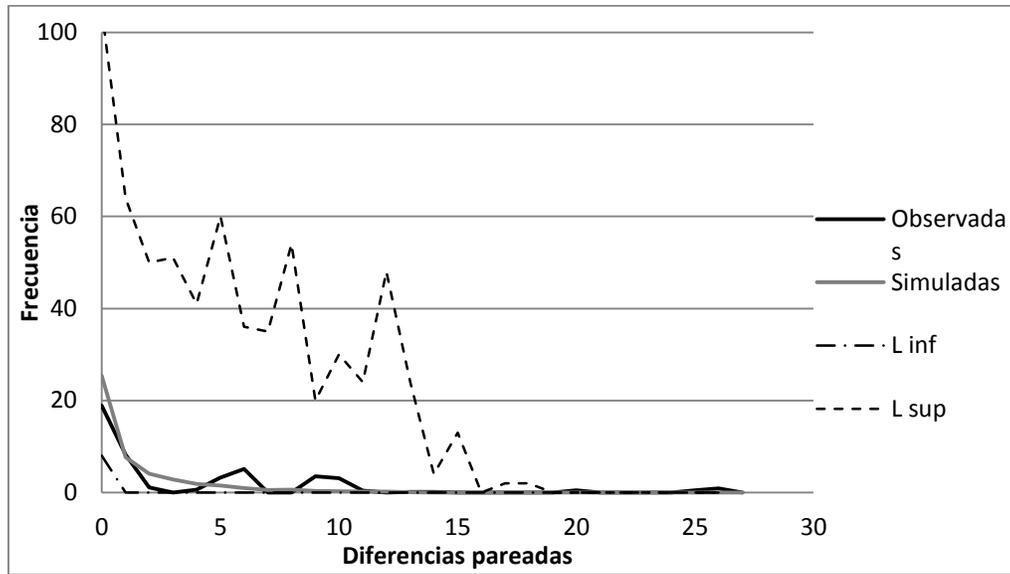


Figura 14. Distribución de mismatch bajo un modelo de expansión demográfica. Los límites inferiores y superiores fueron evaluados con un 99% de intervalo de confianza ( $\alpha = 0.01$ ).

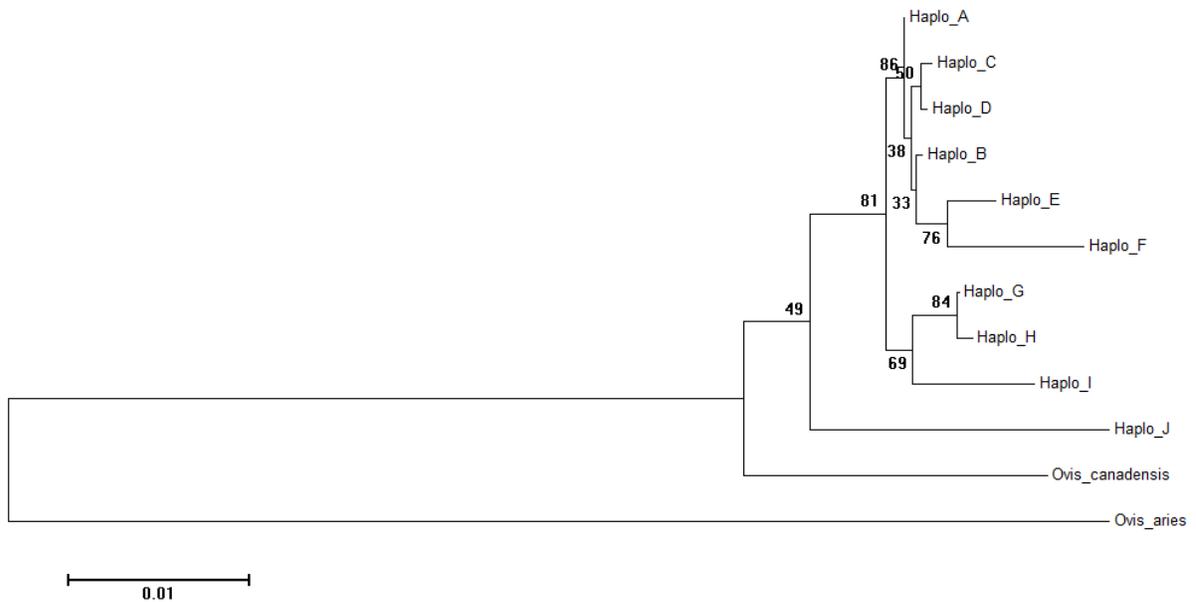


Figura 15. Neighbor-Joining entre haplotipos, la subespecie *O. c. canadensis* y la especie *O. aries*. Representa distancias genéticas basadas en el porcentaje de divergencia entre un par de secuencias. Los números en los nodos representan el valor de Bootstrap con 10000 repeticiones.

El tamaño efectivo inferido con base en la heterocigosis para la Isla del Carmen fue de  $N_e = 0.5$ . Sin embargo, es necesario considerar la naturaleza haploide del marcador, siendo que  $N_e = \frac{N_{ef}}{2}$  (Hedrick 2011), despejando, resulta en  $N_{ef} = 2N_e$ , indicando finalmente que  $N_{ef} = 1$ . Por otro lado considerando al número de fundadores (hembras y machos), se obtuvo un  $N_e = 13.5 \approx N_e = 14$  indicando el total de individuos reproductivos. Ambos resultados de tamaño poblacional son considerablemente bajos.

## 6. 5 Relaciones genealógicas

En el árbol de NJ (Figura 15) se aprecia la disimilitud del haplotipo J con el resto, y la cercanía del mismo con otra subespecie distribuida al norte (*O. c. canadensis*). Además se realizó un árbol de máxima verosimilitud (Anexo 11. 3 Árbol de Máxima Verosimilitud) que muestra una topología semejante, pero la ubicación de algunos haplotipos no se encuentra resuelta. Aunque el haplotipo J mantiene su cercanía a la subespecie hermana en ambos casos.

En el árbol obtenido por el método de NJ (Figura 16) es posible observar que ninguna población (representada por colores) se agrupa totalmente en un haplotipo, sin embargo hay haplotipos que se encuentran principalmente en una zona, tales como los haplotipos G, H e I.

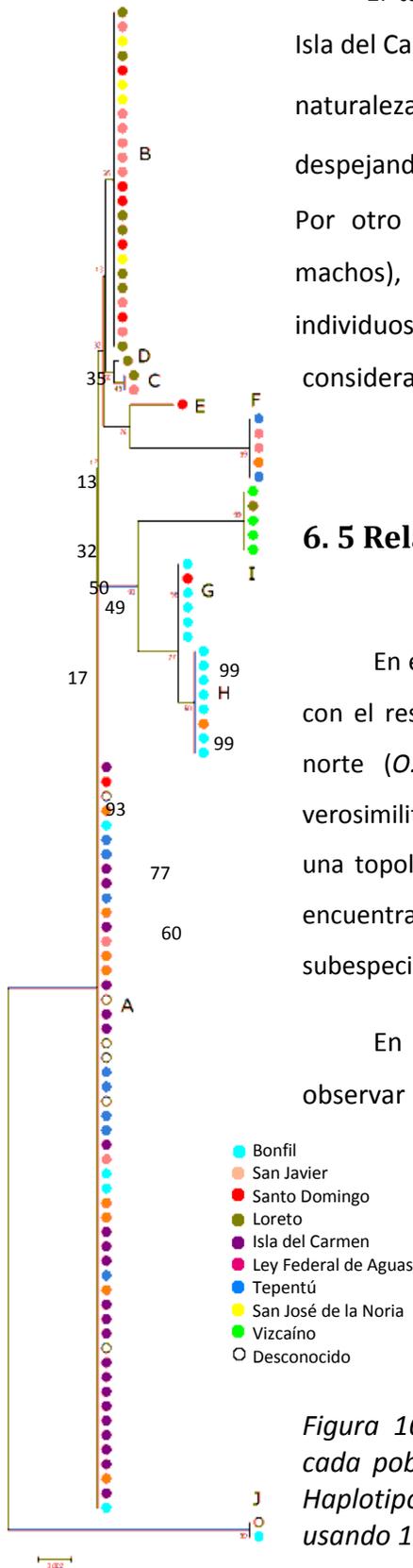
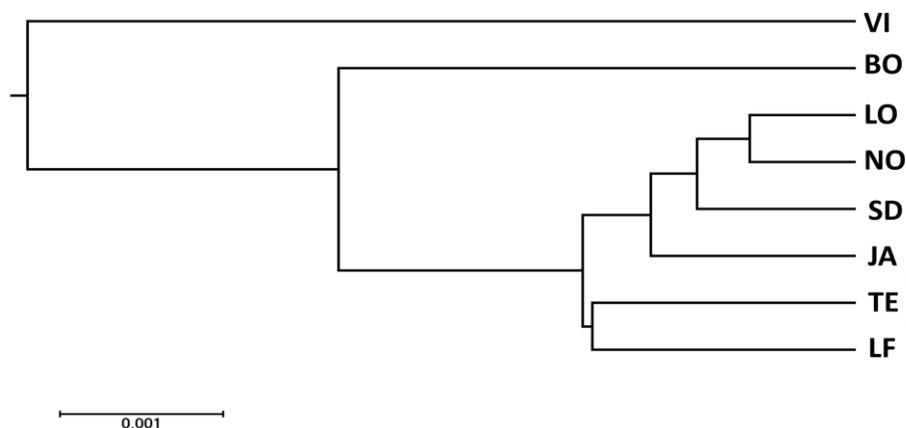


Figura 16. Árbol de Neighbor-Joining (NJ) entre los individuos de cada población. Mismo color corresponde a una misma población. Haplotipos de la A a la J. Los soportes de las ramas se calcularon usando 1000 replicas de bootstrap.

El dendrograma estimado mediante UPGMA para observar las relaciones genéticas entre las poblaciones, nos muestra a la población del Vizcaíno como la más externa y la de mayor distancia con el resto de las poblaciones, la población de Bonfil también se muestra externa y distante a diferencia del resto de las poblaciones (Figura 17).



*Figura 17. Dendrograma usando  $F_{ST}$  como distancia génica entre poblaciones. Vizcaíno (VI), Bonfil (BO), Loreto (LO), San Javier (JA), Santo Domingo (SD), San José la Noria (NO), Tepentú (TE) y Ley Federal de Aguas (LF).*

## 7 Discusión

### 7.1 Diversidad genética

El número de haplotipos de la región control mitocondrial observados es similar con la subespecie *O. c. nelsoni* (Boyce *et al.* 1999), sin embargo no se cuenta con más información para comparar la diversidad nucleotídica, y observar si se presenta el mismo patrón. Al realizar una comparación con otra subespecie desértica de borrego cimarrón (*O. c. mexicana*) (Durán-Álvarez 2013; Gasca-Pineda *et al.* 2013) (Tabla 4), encontramos que la diversidad nucleotídica es más alta en la población de *O. c. mexicana* de Coahuila. Posiblemente la diferencia de diversidad sea debida al origen de los individuos fundadores de cada población. La población de Coahuila fue fundada hace menos de 20 años por aproximadamente 48 individuos, que provenían de distintos orígenes (Durán-Álvarez 2013), lo que propició que ésta población cuente con mayor diversidad pese a su antigüedad. Además en ésta población no se observa un patrón claro de estructuración genética, a diferencia de las poblaciones de *O. c. weemsi*, éste punto se discute más adelante. Por otra parte, la población de Isla Tiburón fue reintroducida hace aproximadamente 40 años utilizando aproximadamente 16 individuos (Medellín *et al.* 1999; Hedrick *et al.* 2001; Colchero *et al.* 2009; Gasca-Pineda *et al.* 2013), y presenta un fuerte efecto fundador (Hedrick *et al.* 2001), por tanto, es comprensible que la diversidad genética sea menor en relación a una población de mayor tamaño y con mayor antigüedad en su área de distribución como es *O. c. weemsi*.

Al comparar la diversidad de *O. c. weemsi* con la reportada para una especie cercana doméstica (*O. aries*) (Chen *et al.* 2006), es claro que existe una gran diferencia entre la diversidad genética en poblaciones en buen estado de conservación, y la diversidad genética de poblaciones que han enfrentado perturbaciones a lo largo de su historia. Posiblemente la disminución en el tamaño poblacional de la subespecie *O. c. weemsi* haya ocasionado que su diversidad actual se asemeje más a la de poblaciones que han sufrido fuertes cuellos de botella y efectos fundadores que a las que han tenido estabilidad demográfica.

Es importante mencionar también que aunque el número de haplotipos es elevado en relación a las otras subespecies del desierto, existe un haplotipo dominante que está sobrerrepresentado al incluir a Isla del Carmen en el análisis, y que disminuye la variación tanto haplotípica como nucleotídica (Tabla 3). De igual forma, las recientes reintroducciones de

individuos de la isla en la Sierra El Mechudo (Jimenez y Hernandez 2010) podrían estar afectando la diversidad de los resultados encontrados, ya que existe la posibilidad de haber muestreado a algunos de estos individuos que poseen el haplotipo dominante.

## 7.2 Estructura, diferenciación y flujo génico

Cuando la distancia de dispersión es limitada, puede ocurrir aislamiento genético entre las subpoblaciones, sin la necesidad de una barrera física al flujo génico (Worley *et al.* 2004). Posiblemente la separación geográfica entre poblaciones sea la principal causa de que el índice  $F_{ST}$  nos indique una considerable diferenciación entre poblaciones ( $F_{ST} = 0.54516$ ), como indica el análisis de aislamiento por distancia. Una dispersión limitada, aunado al alto grado de filopatría en las hembras podrían ser las causas de este patrón (Luikart y Allendorf 1996; Boyce *et al.* 1999; Worley *et al.* 2004). Se han observado resultados semejantes en *Ovis dalli* (Worley *et al.* 2004).

Al encontrar una alta diferenciación entre poblaciones de *O. c. weemsi*, la estimación del índice de migrantes efectivos por generación resultó bajo ( $Nm = 0.42$ ) en comparación con otro reporte para la especie (*O. c. canadensis*:  $Nm = 1.52$ ) (Driscoll *et al.* 2012). Esta baja tasa de migrantes puede ser la causante de la disminución del tamaño efectivo en las poblaciones (Epps *et al.* 2006). Ya que según Wright (1969) y Avise (1995) es necesario que  $Nm > 1$  por generación para homogenizar genéticamente las poblaciones. En la zona central de distribución del borrego cimarrón se aprecia más homogeneidad genética (Figura 12), que puede atribuirse a una mayor cantidad de flujo génico en esta área. Este patrón puede deberse a la cercanía entre ellas y a que comparten la misma serranía (La Giganta; Figura 6), además se encuentran más relacionadas de acuerdo al árbol de distancias génicas entre poblaciones (Figura 17). En este árbol es posible observar un ajuste a un modelo de piedras de paso, en que la diferenciación ocurriría de norte a sur, tal como se plantea ocurrió la colonización en el continente (Geist 1985). Esta distribución también se relaciona con el sistema de serranías, ya que hay un menor impedimento geográfico para el flujo génico entre ellas.

Al realizar una división según las serranías de la región en zonas norte (Las Vírgenes), centro (La Giganta) y sur (El Mechudo) de la población, encontramos que la varianza explica principalmente las diferencias entre las poblaciones y no entre los grupos geográficos formados (Tabla 5A). Al realizar otro análisis tomando en cuenta los grupos arrojados por

BAPS, se encontró que la variación es explicada principalmente por la diferenciación entre grupos (Tabla 5B), lo que apoya la gran diferenciación del Vizcaíno y Bonfil con el resto de las poblaciones, debido posiblemente a la migración limitada en las hembras de esta especie (Boyce *et al.* 1999). Los resultados de la prueba de SAMOVA también indican una alta diferenciación en la población del Vizcaíno con el resto de las poblaciones, y en menor grado pero también significativo, de Bonfil con el resto (Tabla 6). Bajo un modelo de aislamiento por distancia, las diferencias genéticas se encuentran inversamente relacionadas a la cantidad de flujo génico y dependen de la proximidad geográfica entre poblaciones, aunque los movimientos migratorios no dependen sólo de la distancia geográfica, sino también de la presencia de barreras ecológicas (Dupanloup *et al.* 2002). De acuerdo con el análisis de SAMOVA existen al menos 3 barreras que limitan a estas poblaciones del resto, y dos de ellas se ubican al sur de Bonfil. Las barreras presentes podrían no ser físicas, ya que pueden deberse a la gran distancia que separa a estas poblaciones del resto. Al omitir al Vizcaíno y Bonfil del análisis debido a la marcada diferenciación con el resto de las poblaciones, aquellas ubicadas al sur (LF y TE) fueron separadas del resto de las poblaciones. Esto sugiere que hay mayor cantidad de flujo génico en las poblaciones centrales respecto al flujo que mantienen con LF y TE, que se encuentran distribuidas en la zona sur (El Mechudo). Esta agrupación también se distingue en el dendrograma de poblaciones (Figura 17), sin embargo no hay gran soporte para esta división, posiblemente porque el tiempo de divergencia entre estas poblaciones aún no es suficiente para lograr apreciarse en estos análisis.

La sensibilidad de la prueba de aislamiento por distancia es menor al usar un sólo locus, por lo que se recomienda utilizar varios loci para poder corroborar la existencia de estas barreras y, al mismo tiempo, tener una resolución mayor acerca de la variación y la estructura de las poblaciones (Dupanloup *et al.* 2002). Sin embargo, la aproximación aquí presentada brinda un primer acercamiento a esta estructura, así como a los linajes matrilineales en la subespecie.

Existen varios tipos de barreras ecológicas que limitan la migración de los individuos a poblaciones cercanas, y en algunos casos estas barreras pueden ser de origen antropogénico, como se ha demostrado en estudios como el de Epps *et al.* (2005). Por lo tanto es necesario considerar también los grandes proyectos de construcción que se realizan en zonas cercanas

al hábitat de los borregos, tales como aquellos que involucren creación de carreteras, o algún otro que pueda limitar su dispersión.

La cantidad y distribución de la variación genética no sólo se debe a factores ecológicos, sino también históricos (Taberlet *et al.* 1998). Por tanto no debemos descartar la historia evolutiva del borrego cimarrón en América para determinar estas variables.

A lo largo de la historia se han presentado eventos de colonización ligados a cambios climáticos, como la expansión y contracción de los casquetes polares, que a su vez afectan la distribución de las especies. Durante estos eventos climáticos algunas especies se extinguen mientras que otras logran sobrevivir en refugios. Estas poblaciones son las que posteriormente se extenderán una vez que las condiciones climáticas adversas terminen (Taberlet *et al.* 1998). Este proceso de colonización implica que haya cuellos de botella en las poblaciones además de una pérdida de diversidad genética (Taberlet *et al.* 1998). Algunos patrones de pérdida de diversidad genética ocasionada por cuellos de botella al colonizar un área, han sido observados en varias especies tales como humanos (Flint *et al.* 1989), moscas (Chen *et al.* 2006), entre otros.

Históricamente en el caso del borrego cimarrón, las glaciaciones periódicas del Pleistoceno posiblemente produjeron la contracción y posterior expansión de su distribución, dando paso a la creación de refugios, que protegieron a las poblaciones de las zonas muy frías, y que posteriormente recolonizaron una vez pasado el periodo de glaciación (Harris y Mundel 1974; Geist 1985). Estos cambios poblacionales pudieron disminuir la variación genética (Ramey 1995), debido al cuello de botella y efecto fundador que representó la reducción poblacional y la posterior colonización a partir de los refugios ubicados en el Desierto de Mojave y Wyoming (Geist 1985). Posiblemente a causa de estos eventos encontramos una menor variación genética en las poblaciones de *O. canadensis* que colonizaron el suroeste de Estados Unidos y el norte de México.

### **7.3 Aislamiento por distancia**

La prueba de Mantel ( $r=0.708$ ) mostró a mayor distancia geográfica mayor es la diferenciación entre las poblaciones. Estos datos concuerdan con lo reportado anteriormente por Epps *et al.* (2005) y Forbes y Hogg (1999), quienes propusieron que en *O. c. canadensis* hay un mayor

flujo génico entre poblaciones geográficamente cercanas. Debido a que las características del hábitat donde el borrego cimarrón vive son muy específicas (aparte de los requerimientos ecológicos es necesaria buena visibilidad, terreno de escape, forraje abundante y continuo), la especie se distribuyen en parches (Risenhoover *et al.* 1988). Así es posible explicar que haya una mayor diferenciación entre sus poblaciones a medida que aumenta la distancia geográfica que las separa.

#### **7. 4 Demografía histórica**

La existencia de haplotipos privados (Figura 16) en las poblaciones podría tener diversas explicaciones. Algunas podrían estar relacionadas con las características y limitaciones del enfoque experimental, ya que el muestreo estuvo posiblemente sesgado al sólo contar con muestras provenientes de actividades cinegéticas y el número de individuos en cada población analizada fue variable (número de muestra en la península de 4 a 16 y 23 en la isla). Por otro lado, es posible que durante la historia demográfica reciente del borrego cimarrón se haya presentado un evento de expansión poblacional, tal como lo sugiere el análisis de *mismatch* (Figura 14), que a su vez es apoyado por la *D* de Tajima, y la *F* de Fu y Li. En general, el encontrar alelos en menor frecuencia de lo esperado indica eventos de expansión. Tal expansión poblacional pudo deberse a que Baja California presenta actualmente clima, vegetación y topografía adecuadas para el desarrollo de *O. canadensis*, además de que no alberga competidores y depredadores capaces de limitar su desarrollo (Geist 1985). Dada la reciente aparición del borrego cimarrón en esta zona, la variación interpoblacional de sitios segregantes y de diferencias nucleotídicas podrían aún no ser suficientes para dar significancia a la prueba de Tajima, o podría deberse solamente al tamaño total de muestra, para el que esta prueba es muy sensible.

#### **7. 5 Relaciones genealógicas**

En los distintos clados formados por *Neighbor-Joining* y máxima verosimilitud (Anexo 11. 3 Árbol de Máxima Verosimilitud), el haplotipo J (ubicado al norte), mantiene una considerable diferenciación del resto de los haplotipos, y se ubica más cercanamente a los grupos hermanos con que se enraíza el árbol. Esta relación podría sugerir un mayor parecido con la

subespecie hermana (*O. c. cremnobates*) ubicada al norte de las poblaciones de estudio. Este patrón también se observa en el dendrograma realizado con las poblaciones, pues son aquellas ubicadas al norte (Vizcaíno y Bonfil) las que se encuentran más externamente en el dendrograma (Figura 17). Ambos patrones podrían sugerir eventos de hibridación con *O. c. cremnobates* y con las localidades del Vizcaíno y Bonfil, haciendo más difícil su caracterización (Hiendleder *et al.* 2002; Rezaei 2007; Rezaei *et al.* 2010).

Los eventos de hibridación han sido reportados ampliamente en todo el género (Hiendleder *et al.* 2002; Rezaei 2007; Rezaei *et al.* 2010). Sin embargo, no se cuenta con muestras o secuencias disponibles de la subespecie *O. c. cremnobates* para poner a prueba la hipótesis de que estas subespecies estén hibridando, o en dado caso, sean las poblaciones más lejanas (Vizcaíno y Bonfil) pertenecientes a la subespecie hermana.

Otro aspecto relevante sobre la subespecie de estudio está relacionado con los límites de su distribución, ya que es difícil establecerlos de manera contundente. La diferenciación de la parte norte de la población, así como la distancia de algunos haplotipos (como el J) con la mayor parte de las poblaciones nos podrían indicar que es posible que existan eventos de hibridación con la subespecie distribuida al norte (*O. c. cremnobates*). Esta hibridación de individuos cercanamente relacionados hace difícil la delimitación de las poblaciones en los puntos de conexión (Mace *et al.* 1996), además de que el tiempo de divergencia entre ambas subespecies podría no ser el suficiente para delimitar claramente la variación entre las secuencias. Por ello, discriminar que tan al norte se distribuye la subespecie *O. c. weemsi* sería algo aventurado, ya que también ésta diferenciación podría ser producto únicamente del aislamiento geográfico y reproductivo.

## **7. 6 Isla del Carmen**

La falta de diversidad en la población de Isla del Carmen podría explicarse por el cuello de botella sufrido al colonizar con un bajo número de individuos (26 borregos cimarrones fundadores, en 1995 y 1996), además de la posible potenciación del efecto fundador debido a la ausencia de una introducción posterior (flujo génico) de borregos cimarrones a la isla. Así, aunque el número de fundadores hubiera sido mayor, se ha observado que a pesar de crear una población con un número grande de individuos, la ausencia de flujo génico incrementa la

pérdida de diversidad (Wisely *et al.* 2007). El número reducido de individuos con los que se inicia una población podría llevarla a sufrir algún decaimiento demográfico, debido a la introducción de un agente infeccioso que los residentes no pueden combatir (Gulland 1997), pues ya anteriormente se han observado las repercusiones negativas debido al movimiento de individuos (Hess 1996).

La relevancia del efecto fundador y el cuello de botella en la población radica en que ambos pueden reducir la variación genética y en consecuencia resultar en la disminución de la adecuación y el potencial de adaptación, así como una alta probabilidad de extinción y mayor susceptibilidad al efecto de la deriva génica (Hedrick *et al.* 2001; Whittaker *et al.* 2004). En el caso de la Isla del Carmen, es necesario considerar que uno de los objetivos de su creación fue subsanar la disminución del número de individuos dentro del rango de distribución de la subespecie, y que por encontrarse aislada geográficamente, está libre de cualquier efecto negativo que se lleve a cabo en el continente. En años recientes se ha implementado el uso de estos individuos para repoblar otros sitios. Considerando que ésta población presenta poca variación, es necesario reevaluar si esta estrategia es eficiente; ya que la continua introducción de individuos a las poblaciones del continente podría, a largo plazo, mermar aún más su diversidad genética.

Los individuos fundadores de la isla provienen de dos áreas de la Sierra el Mechudo, la primera de ellas de San Juan de la Costa, cercana a la localidad Ley Federal de Aguas y la segunda de Tepentú (Figura 6 y 8). En estas localidades observamos gran dominancia del haplotipo A (Figura 10). Esto podría explicar la presencia de este único haplotipo en la isla, sin embargo, en la zona de colecta de los fundadores existen otros haplotipos y por ello surgen una serie de incógnitas: ¿realmente sólo se introdujo un haplotipo en la isla?, ¿es posible que los haplotipos pobremente representados se hayan perdido por deriva génica?, ¿el resultado observado se debe al tamaño de muestra? Para realizar un acercamiento a las preguntas anteriores, realizamos un análisis de probabilidad mediante remuestreo, que indica la posibilidad de obtener en un remuestreo el 100% de individuos de un solo haplotipo suponiendo las distintas frecuencias de ellos (Anexo 11.4 Análisis de probabilidad mediante remuestreo). Observamos que para recuperar un solo haplotipo y usando el tamaño de muestra de 23 individuos, éste haplotipo debería tener una frecuencia mayor al 90%. Es decir, si existe otro haplotipo mitocondrial, está en muy baja frecuencia, de lo contrario lo

habríamos logrado detectar. Además el tamaño efectivo poblacional con que se fundó la isla resulta ser considerablemente bajo, lo que indica que la diversidad inicial en ésta era muy baja. Suponiendo lo anterior, es probable que la actual diversidad sea debida al efecto fundador y a los fuertes procesos de deriva génica a los que se ven sometidos las poblaciones pequeñas y aisladas, llevando así a la pérdida de variación genética.

Pese a la poca variación en la Isla del Carmen, la población ha mostrado una alta tasa de crecimiento (300 individuos aproximadamente al 2008) (Jimenez y Hernandez 2010), superando la capacidad de carga que se había planteado podría tolerar la isla (Deforge *et al.* 1997). Es posible que la falta de depredadores contribuya al incremento poblacional. Adicionalmente considerando la historia evolutiva de la especie, especialmente en México y las zonas áridas del Suroeste de los Estados Unidos, el borrego cimarrón podría estar adaptado a subsistir con poca variación genética. Tal como ha sucedido en otras especies en las que se ha detectado poca variación y son viables, gracias a la purga de alelos deletéreos a lo largo de su historia evolutiva (Chen *et al.* 2006; Castro-Prieto *et al.* 2011).

Este es un caso semejante al de la Isla Tiburón, que al momento tampoco ha presentado un efecto adverso, y ha sido utilizada para repoblar poblaciones del continente (Wakeling 2009). Por tal es posible pensar que las poblaciones mexicanas de borrego cimarrón podrían estar habituadas a subsistir con una baja diversidad genética, gracias a la ya mencionada purga de alelos deletéreos, o también a que la variación responsable de responder a enfermedades (complejo mayor de histocompatibilidad) es más alta que la encontrada en los marcadores utilizados en este análisis.

Los cuellos de botella no necesariamente se contraponen al crecimiento poblacional posterior de una población, ya que si la especie muestra un genotipo adecuado al hábitat o posee suficiente plasticidad fenotípica podrá reproducirse y sobrevivir con éxito (Chen *et al.* 2006), permitiendo así, el incremento poblacional encontrado tanto en Isla del Carmen como en Isla Tiburón. No obstante, ello no asegura que las poblaciones sean capaces de responder a nuevas contingencias del medio, por lo que se recomienda mantener ciertas reservas en cuanto al manejo de las poblaciones.

Por otra parte, si bien en la Isla del Carmen no están los borregos hacinados, algunas de las condiciones podrían considerarse semejantes al cautiverio, ya que no presentan varias de

las características y adversidades que enfrentarían en su hábitat natural, tales como la exposición a depredadores y contacto con ganado; este último aspecto ha demostrado ser de gran impacto para la transmisión de enfermedades en el borrego (Woodford y Rossiter 1994; Gutierrez-Espeleta *et al.* 2001; Cassaigne *et al.* 2010). Estas enfermedades han mermado de forma importante algunas poblaciones (Woodford y Rossiter 1994; Cahn *et al.* 2011), y las catástrofes ocasionadas por enfermedades pueden acabar con el 35% al 75% de una población en un solo año (Gross *et al.* 2000).

Es preocupante que los borregos de la Isla del Carmen puedan adaptarse a un hábitat en que no están expuestos a las condiciones que afectan a las poblaciones del continente, y que posteriormente podrían tener efectos deletéreos a largo plazo al reintroducirlos al mismo (Frankham 2005). El hecho de que tales efectos no se hayan detectado en poblaciones de la Isla del Carmen ni en Isla Tiburón aún, no es motivo de despreocupación al respecto, pues es posible que no hayan pasado suficientes generaciones para verlos.

Una de las recomendaciones que realiza Frankham *et al.* (2010) para disminuir la adaptación al cautiverio es el incremento de la variación genética dentro de las poblaciones por medio de la maximización de la proporción de inmigrantes silvestres. Con éste punto, además de incrementar la variación genética se disminuye la posibilidad de depresión por endogamia (Olson *et al.* 2012). Sin embargo, el elevado tamaño poblacional actual de la isla dificulta tomar medidas respecto a la introducción de nuevos individuos. Sin olvidar también el riesgo de introducir junto con los posibles migrantes, enfermedades que podrían poner en riesgo a la población de la Isla del Carmen. No obstante, realizar inspecciones del estado de salud (enfermedades, parásitos, etc.) y vacunación (en el caso de ser pertinente, Woodford y Rossiter 1994) de los individuos que pudieran ser introducidos a la isla, disminuye las posibilidades de introducir nuevas enfermedades.

Para la recuperación de poblaciones del continente, es recomendable la supervisión y seguimiento de los organismos reintroducidos (Wisely *et al.* 2007), pues muchas veces las reintroducciones han fallado o han experimentado un decremento en la diversidad por no encontrarse lo suficientemente aptos para el hábitat al que se ven expuestos (Olson *et al.* 2012; Risenhoover *et al.* 1988). Esto se ha visto en algunas traslocaciones de borrego cimarrón en que sólo el 53% de los individuos ha logrado establecerse (Gross *et al.* 2000). Así, se hace necesario monitorear a las nuevas poblaciones para asegurar su establecimiento y

crecimiento; pues si no se establecen pronto, es necesario introducir más individuos para amortiguar la estocasticidad demográfica y genética (Wisely *et al.* 2007).

En general es recomendable realizar el movimiento de individuos de la isla al continente y en dirección opuesta sólo entre la Isla del Carmen y la serranía El Mechudo. En teoría, ambas poblaciones se han visto expuestas al mismo tipo de enfermedades, por provenir los fundadores de esta zona del continente. Además, El Mechudo es una de las zonas con mayor densidad de ganado ovino (INEGI 2009), lo que incrementa la posibilidad de transmisión de enfermedades propias del ganado a estas poblaciones. Por otra parte, en el caso de las poblaciones de la serranía La Giganta se ha observado un mayor número de animales asilvestrados (Lee 2003; Jimenez y Hernandez 2010) lo que podría incidir en la presencia de otro tipo de enfermedades en esta área con respecto a El Mechudo. Por lo tanto, es más recomendable no inducir reintroducciones entre la Isla y otras áreas del continente ya que se podrían estar introduciendo enfermedades a las que los borregos (*O. canadensis*) no han sido expuestos.

## 8 Conclusiones y Perspectivas

1. En este trabajo generé datos acerca de la diversidad genética mitocondrial en las poblaciones de la subespecie *O. c. weemsi* en Baja California Sur, con la finalidad de entender su evolución y ayudar a su conservación.
2. La variación encontrada en las poblaciones de *O. c. weemsi* es relativamente baja.
3. Existe un considerable grado de diferenciación en las poblaciones del borrego cimarrón de Baja California Sur. Esta diferenciación puede atribuirse tanto a la historia de colonización de la especie como a la fragmentación y distancia entre las poblaciones.
4. Detecté un patrón de aislamiento por distancia que contribuye a la diferenciación de las poblaciones.
5. La Isla del Carmen tiene nula variación genética mitocondrial, tal vez debida a un efecto fundador, sin embargo, su éxito poblacional es grande por el momento. Es difícil saber por cuánto tiempo, o si podrá sobrevivir a alguna nueva contingencia que pueda presentarse en su entorno, ya sea en la isla o en las poblaciones una vez reintroducidas al continente.
6. Dentro de la península es recomendable procurar la conservación de aquellas áreas donde que las poblaciones se encuentran en contacto, para favorecer el flujo génico, y disminuir las posibilidades de diferenciación entre poblaciones, maximizando también la diversidad de las mismas.
7. A pesar de que el número de individuos utilizados en este análisis es lo suficientemente representativo para tener una aproximación válida de la historia genética de las poblaciones que componen a *O. c. weemsi*, sería recomendable realizar análisis adicionales utilizando el complejo mayor de histocompatibilidad y microsatélites nucleares para obtener resultados más finos de la historia evolutiva de esta subespecie, que nos permitan corroborar la significancia y resolución de algunos análisis, obteniendo resultados no sólo del linaje materno, sino completando la historia evolutiva con la información paterna.
8. Se recomienda incrementar el área de muestreo, así como el número de muestra por población, para brindar una mayor confianza en los datos.

9. Es importante en el futuro incluir análisis con la subespecie *O. c. cremnobates*, para arrojar mayor información sobre la diferenciación con ella, así como establecer límites entre las subespecies y las áreas de contacto que se puedan presentar entre ellas.

## 9 Glosario

**Alelo:** la parte de ADN en un determinado lugar. Las diferentes formas de un gen.

**Cromosoma:** Pieza grande de ADN que generalmente segrega independiente de otros cromosomas.

**Degenerado:** Redundancia en el código genético donde más de un codón especifica un aminoácido dado.

**Gen:** Unidad de herencia que es transmitida de los padres a la descendencia. Pueden ser codificantes o no codificantes.

**Haplotipo:** Los alelos en genes ligados en una copia del cromosoma

**Herencia materna:** Genes transmitidos de madre a su descendencia (ADNm, ADNcp).

**Ligación:** Proximidad física de los genes en un cromosoma.

**Locus:** el lugar en un cromosoma donde se encuentra un alelo. El lugar en que un gen en particular se encuentra en un cromosoma.

**Loci:** plural de locus

**Recombinación:** Rompimiento y unión de los cromosomas durante la meiosis.

## 10 Referencias

- Allendorf, F.W., Luikart, G. y Aitken, S.N., 2012. *Conservation and the Genetics of Populations* 2a ed., John Wiley & Sons.
- Alvarez-Cardenas, S. *et al.*, 2001. The variables of physical habitat selection by the desert bighorn sheep (*Ovis canadensis weemsi*) in the Sierra del Mechudo, Baja California Sur, México. *Journal of Arid Environments*, 49(2), pp.357–374. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140196300907808>.
- Alvarez-Cárdenas, S. *et al.*, 2009. Evaluación de elementos estructurales del hábitat del borrego cimarrón en la Sierra del Mechudo , Baja California Sur , México. *Tropical Conservation Science*, 2(2), pp.189–203.
- Álvarez-Romero, J. y Medellín, R.A., 2005. *Ovis canadensis*. In *Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales*. México. D.F.: Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 1–7.
- Arif, I. a *et al.*, 2011. DNA marker technology for wildlife conservation. *Saudi journal of biological sciences*, 18(3), pp.219–25. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3730548&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Arita, H. y Ceballos, G., 1997. Los mamíferos de México: distribución y estado de conservación. *Revista Mexicana de Maztozooligía*, 2, pp.33–71. Disponible en: <http://revistamexicanademastozoologia.com.mx/ojs/index.php/rmm/article/view/71>.
- Avise, J.C., 1995. Mitochondrial DNA Polymorphism and a Connection Between Genetics and Demography of Relevance to Conservation. *Conservation Biology*, 9(3), pp.686–690.
- Avise, J.C., 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution* 2a ed., EUA: Sinauer Associates, Inc.
- BCS, 2013. Baja California Sur. Disponible en : <http://www.bcs.gob.mx/index.php/2013-01-09-18-42-54> [Revisado en Octubre 10, 2013].
- Boyce, W.M. *et al.*, 1997. Genetic Variation of Major Histocompatibility Complex and Microsatellite Loci: A Comparison in Bighorn Sheep. *Genetics*, 145(2), pp.421–433.
- Boyce, W.M. *et al.*, 1999. Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. *Molecular ecology*, 8(1), pp.99–106. Disponible en : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9919700>.
- Brigham, W.R., Rominger, E. y Espinosa, A., 2007. Desert bighorn sheep management: reflecting on the past and hoping for the future. En B. F. Wakeling, ed. *Desert Bighorn Council Transactions. Volumen 49*. Las Vegas, Nevada: Arizona Game and Fish Department, pp. 1–7.

- Bunch, T.D. *et al.*, 2006. Phylogenetic analysis of snow sheep (*Ovis nivicola*) and closely related taxa. *The Journal of Heredity*, 97(1), pp.21–30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16267166>.
- Cahn, M.L. *et al.*, 2011. Disease, population viability, and recovery of endangered Sierra Nevada bighorn sheep. *The Journal of Wildlife Management*, 75(8), pp.1753–1766. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/jwmg.232> [Revisado en Septiembre 12, 2014].
- Cariño, M. y Monteforte, M., 2008. *Del Saqueo a la Conservación. Historia ambiental contemporánea de Baja California Sur, 1940-2003* M. Cariño y M. Monteforte, eds., México: SEMARNAT.
- Cassaigne, I., Medellín, R.A. y Guasco, J., 2010. Mortality during epizootics in bighorn sheep: effects of initial population size and cause. *Journal of wildlife diseases*, 46(3), pp.763–771. Disponible en: <http://jwildlifedis.org/doi/abs/10.7589/0090-3558-46.3.763>.
- Castro-Prieto, A., Wachter, B. y Sommer, S., 2011. Cheetah paradigm revisited: MHC diversity in the world's largest free-ranging population. *Molecular biology and evolution*, 28(4), pp.1455–68. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21183613>.
- Chen, S.-Y. *et al.*, 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene*, 376(2), pp.216–23. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16704910>.
- Chen, Y.H. *et al.*, 2006. Are bottlenecks associated with colonization? Genetic diversity and diapause variation of native and introduced *Rhagoletis completa* populations. *Oecologia*, 149(4), pp.656–67. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16858586>.
- CITES, 2013. Appendices I, II and III. *United Nations Environment Programme*. Disponible en: <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php> [Revisado en Septiembre 18, 2013].
- Clement, M., Posada, D. y Crandall, K. a, 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9(10), pp.1657–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11050560>.
- Colchero, F. *et al.*, 2009. Predicting population survival under future climate change: density dependence, drought and extraction in an insular bighorn sheep. *The Journal of animal ecology*, 78(3), pp.666–73. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19245378>.
- Corander, J. *et al.*, 2013. BAPS: Bayesian Analysis of Population Structure. , pp.1–28.
- Deforge, J.R. *et al.*, 1997. Translocation and Population Modeling of Weems Desert Bighorn in Baja California Sur, México. En R. M. Lee, ed. *Desert Bighorn Council Transactions. Volumen 41*. Phoenix, Arizona: Arizona Game and Fish Department, pp. 51–73.
- Dellicour, S. y Mardulyn, P., 2014. SPADS 1.0: a toolbox to perform spatial analyses on DNA sequence datasets. *Molecular Ecology Resources*.
- Development Core Team, R., 2008. R: A language and environment for statistical computing. Disponible en: <http://www.r-project.org>.

- Driscoll, C., Hazekamp, C. y Mitton, J.B., 2012. *Population Genetic Analyses of Rocky Mountain Bighorn Sheep (Ovis canadensis) Herds in and Around Estes Park, Colorado, Colorado*.
- Dupanloup, I., Schneider, S. y Excoffier, L., 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11, pp.2571–2581. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-294X.2002.01650.x/full>.
- Durán-Álvarez, C., 2013. *Genética de poblaciones de borrego cimarrón (Ovis canadensis) en Pilares, Coahuila, México. Su manejo y conservación en cautiverio*. Universidad Autónoma de México.
- Epps, C.W. et al., 2006. Elevation and connectivity define genetic refugia for mountain sheep as climate warms. *Molecular ecology*, 15(14), pp.4295–302. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17107466>.
- Epps, C.W. et al., 2005. Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters*, 8(10), pp.1029–1038. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1461-0248.2005.00804.x>.
- Etnyre, E. et al., 2011. Artiodactyla (en línea). *Animal Diversity Web*. Disponible en: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Artiodactyla/> [Accesed September 18, 2013].
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S., 2006. Arlequin. An Integrated Software Package for Population Genetics. *Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG)*. , p.145.
- Festa-Bianchet, M., 2008. *Ovis canadensis*. *IUCN Red List of Threatened Species*. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/15735/0> [Revisado en Septiembre 18, 2013].
- Fisher, R., 1930. *The genetical theory of natural selection*, London: Oxford, University Press. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2984947/>.
- FitzSimmons, N., 1995. Population history, genetic variability, and horn growth in bighorn sheep. *Conservation Biology*, 9(2), pp.314–323. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1523-1739.1995.9020314.x/full>.
- Flint, J. et al., 1989. Population bottlenecks in Polynesia revealed by minisatellites. *Human genetics*, 83(3), pp.257–63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2793169>.
- Forbes, S.H. y Hogg, J.T., 1999. Assessing population structure at high levels of differentiation: microsatellite comparisons of bighorn sheep and large carnivores. *Animal Conservation*, 2(3), pp.223–233. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1017/S1367943099000554>.
- Frankham, R., 2005. Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(4), pp.750–755. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033545>.
- Frankham, R., Ballou, J.D. y Briscoe, D.A., 2010. *Introduction to Conservation Genetics* 2a ed., New York: Cambridge University Press.

- Fraser, D. y Bernatchez, L., 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology*, 10, pp.2741–2752. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.0962-1083.2001.01411.x/full>.
- Futuyma, D.J., 2009. *Evolution* 2nd ed., Sinauer Associates, Inc.
- Gart, J.J., Siegel, A.F. y German, R.Z., 1982. Rarefaction and Taxonomic Diversity. *Biometrics*, 38(1), pp.235–241.
- Gasca-Pineda, J. *et al.*, 2013. Effective Population Size, Genetic Variation, and Their Relevance for Conservation: The Bighorn Sheep in Tiburon Island and Comparisons with Managed Artiodactyls W. Barendse, ed. *PLoS ONE*, 8(10), p.12. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0078120>.
- Gatesy, J. *et al.*, 1992. Phylogeny of the Bovidae (Artiodactyla, Mammalia), Based on Mitochondrial Ribosomal DNA Sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 9(3), pp.433–446.
- Geist, V., 1985. On Pleistocene Bighorn Sheep: Some Problems of Adaptation, and Relevance to Today's American Megafauna. *Wildlife Society Bulletin*, 13(3), pp.351–359.
- Gillespie, J.H., 1998. *Population Genetics* 1st ed., Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- Gómez, W. *et al.*, 2011. Bovidae (en línea). *Animal Diversity Web*. Disponible en: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Bovidae/> [Accessed January 21, 2013].
- Gordon, D., Abajian, C. y Green, P., 1998. Consed: A Graphical Tool for Sequence Finishing. *Genome Research*, 8(3), pp.195–202. Disponible en: <http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.8.3.195>.
- Gross, J.E., Singer, F.J. y Moses, M.E., 2000. Effects of Disease , Dispersal , and Area on Bighorn Sheep Restoration. *Restoration Ecology*, 8(4), pp.25–37.
- Gulland, F.M.W., 1997. The impact of infectious diseases on wild animal populations. En B. T. Grenfell y A. P. Dobson, eds. *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*. UK: Cambridge University Press, pp. 20–51.
- Gutiérrez Espeleta, G.A. *et al.*, 2000. Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep : implications for conservation. *Conservation Genetics*, 1, pp.3–15.
- Gutierrez-Espeleta, G. a *et al.*, 2001. Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the result of low MHC variation? *Heredity*, 86, pp.439–450. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11520344>.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, (41), pp.95–98.
- Hamilton, M.B., 2009. *Population Genetics* 1st ed., UK: John Wiley & Sons.
- Harris, A.H. y Mundel, P., 1974. Size Reduction in Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) at the Close of the Pleistocene. *Journal of Mammalogy*, 55(3), pp.678–680. Disponible en:

<http://www.jstor.org/discover/10.2307/1379563?uid=3738664&uid=2&uid=4&sid=21101951000281>.

- Hartl, D.L. y Clark, A.G., 1989. *Principles of Population Genetics* 2a ed., USA: Sinauer Associates, Inc.
- Hassanin, A. y Douzery, E.J., 1999. The tribal radiation of the family Bovidae (Artiodactyla) and the evolution of the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular phylogenetics and evolution*, 13(2), pp.227–243. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10603253>.
- Hedrick, P.W., 2011. *Genetics of Populations* 4a ed., USA: Jones & Bartlett Learning.
- Hedrick, P.W., 2004. Recent developments in conservation genetics. *Forest Ecology and Management*, 197, pp.3–19. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112704003123>.
- Hedrick, P.W., Gutierrez-Espeleta, G.A. y Lee, R.N., 2001. Founder effect in an island population of bighorn sheep. *Molecular ecology*, 10(4), pp.851–857. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11348494>.
- Hedrick, P.W. y Miller, P.S., 1992. Conservation Genetics: Techniques and Fundamentals. *Ecological Applications*, 2(1), pp.30–46.
- Hess, G., 1996. Disease in Metapopulation Models: Implications for Conservation. *Ecology*, 77(5), pp.1617–1632.
- Hiendleder, S. et al., 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 269(1494), pp.893–904. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1690972&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Höglund, J., 2009. *Evolutionary Conservation Genetics*, New York: Oxford University Press.
- Hudson, R.R., Slatkint, M. y Wayne, P.M., 1992. Estimation of Levels of gene Flow From DNA Sequence Data. *Genetics*, 132, pp.583–589.
- Hughes, A.R. et al., 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology letters*, 11(6), pp.609–623. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18400018>.
- INEGI, 2009. *Censo Agropecuario 2007, VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal*, Aguascalientes, Ags. Disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/tabuladosbasicos/default.aspx?c=17177&s=est> [Revisado en Septiembre 22, 2014].
- ITIS, 2013a. *Ovis canadensis* Shaw, 1804. Disponible en: [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=180711](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180711) [Revisado en Septiembre 18, 2013].

- ITIS, 2013b. *Ovis Linnaeus*, 1758. Disponible en: [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=180709](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180709) [Revisado en Septiembre 18, 2013].
- Jimenez, S.L. *et al.*, 1996. Desert Bighorn Sheep Recovery Project in Baja California Sur, México. *Desert Bighorn Council*, 40, pp.8–12.
- Jimenez, S.L. *et al.*, 1997. Update of the Conservation Plan for Weems Desert Bighorn on Carmen Island, Baja California Sur, Mexico. En R. M. Lee, ed. *Desert Bighorn Council Transactions. Volumen 41*. Phoenix, Arizona: Arizona Game and Fish Department, pp. 44–50.
- Jimenez, S.L. y Hernandez, C., 2010. Programa de Conservación del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis weemsi*) en Baja California Sur, México. *Galemys*, 22, pp.447–468.
- Jorgenson, J. y Festa-Bianchet, M., 1997. Effects of age, sex, disease, and density on survival of bighorn sheep. *Ecology*, 78(4), pp.1019–1032. Disponible en: [http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-9658\(1997\)078%5B1019:EOASDA%5D2.0.CO%3B2](http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-9658(1997)078%5B1019:EOASDA%5D2.0.CO%3B2).
- Krausman, P.R. *et al.*, 1989. Relationships between Desert Bighorn Sheep and Habitat in Western Arizona. *Wildlife Monographs*, (102), pp.3–66.
- Krausman, P.R. y Shackleton, D., 2000. Bighorn sheep. In S. Demarais y P. R. Krausman, eds. *Ecology and management of large mammals in North America*. Prentice-Hall, pp. 517–544.
- Larkin, M. a *et al.*, 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 23(21), pp.2947–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17846036>.
- Lee, R., 2003. A review of recent wild sheep surveys in Baja California Sur, Mexico. *Desert Bighorn Council Transactions*, 47, pp.43–46.
- Lee-Stokes, W. y Condie, K.C., 1961. Pleistocene Bighorn Sheep from the Great Basin. *Journal of Paleontology*, 35(3), pp.598–609.
- Lemey, P., Salemi, M. y Vandamme, A.-M., 2010. *The Phylogenetic Handbook* 2a ed., New York: Cambridge University Press.
- Librado, P. y Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 25(11), pp.1451–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19346325> [Accessed September 16, 2013].
- Lindell, J., Ngo, A. y Murphy, R.W., 2006. Deep genealogies and the mid-peninsular seaway of Baja California. *Journal of Biogeography*, 33, pp.1327–1331.
- List, R. *et al.*, 2010. The Janos Biosphere Reserve, Northern Mexico. *International Journal of Wilderness*, 16(2), pp.35–41.
- List, R. y Solís, V., 2008. *Diagnóstico sobre el estado actual de la población de Bisonte americano (Bison bison) en la frontera entre México y Estados Unidos y recomendaciones para su conservación y manejo.*, Mexico.

- Llorente-Bousquets, J. y Ocegueda, S., 2008. Estado del conocimiento de la biota. En *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. México, D.F: CONABIO, pp. 283–322.
- Luikart, G. y Allendorf, F.W., 1996. Mitochondrial-DNA Variation and Genetic-Population Structure in Rocky Mountain Bighorn Sheep (*Ovis canadensis canadensis*). *Journal of Mammalogy*, 77(1), pp.109–123.
- Mace, G. et al., 1996. An overview of the issues. In T. B. Smith y R. K. Wayne, eds. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. New York: Oxford University Press, p. 504.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2), pp.209–220. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6018555>.
- Manterola y Piña, C., 1999. *Monitoreo de las poblaciones de borrego cimarrón (Ovis canadensis weemsi) en Baja California Sur, México*, México. D.F.
- McTaggart-Cowan, I., 1940. Distribution and Variation in the Native Sheep of North America. *American Midland Naturalist*, 24(3), pp.505–580.
- Medellín, R. et al., 1999. The tiburon island Bighorn Sheep Program. *Wild Sheep*, pp.71–72.
- Modi, W.S., Gallagher, D.S. y Womack, J.E., 1996. Evolutionary histories of highly repeated DNA families among the Artiodactyla (Mammalia). *Journal of Molecular Evolution*, 42(3), pp.337–49. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8661995>.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, New York: Columbia University Press.
- Neigel, J.E., 1996. Estimation of Effective Population Size and Migration Parameters from Genetic Data. En T. B. Smith y R. K. Wayne, eds. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. New York: Oxford University Press, p. 504.
- Noss, R.F., 1990. Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. *Conservation Biology*, 4(4), pp.355–364. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1523-1739.1990.tb00309.x>.
- Oksanen, J. et al., 2013. Package Vegan. Disponible en: <http://vegan.r-forge.r-project.org/>, 11:32:11.
- Olson, Z.H., Whittaker, D.G. y Rhodes, O.E., 2012. Evaluation of experimental genetic management in reintroduced bighorn sheep. *Ecology and evolution*, 2(2), pp.429–43. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3298953&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Orr, R.T., 1960. An Analysis of the Recent Land Mammals. *Systematic Zoology*, 9(3), pp.171–179.
- Palumbi, S.R. y Baker, S., 1996. Nuclear Genetic Analysis of Population Structure and Genetic Variation Using Intron Primers. En T. B. Smith y R. K. Wayne, eds. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. New York: Oxford University Press, p. 504.

- Posada, D., 2008. jModelTest 0.1.1. , 1(Abril), pp.1–23.
- Ramey, R.R., 1995. Mitochondrial DNA variation, population structure, and evolution of mountain sheep in the south-western United States and Mexico. *Molecular Ecology*, 4(4), pp.429–439. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8574442>.
- Reed, D.H. *et al.*, 2003. Inbreeding and extinction : Effects of rate of inbreeding. *Conservation Genetics*, 4, pp.405–410.
- Rezaei, H.R. *et al.*, 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(2), pp.315–26. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19897045>.
- Rezaei, H.R., 2007. *Phylogénie moléculaire du Genre Ovis (Mouton et Mouflons), Implications pour la Conservation du Genre et pour l'Origine de l'Espèce Domestique*. Université Joseph Fourier.
- Ricklefs, R.E., 2007. Estimating diversification rates from phylogenetic information. *Trends in ecology & evolution*, 22(11), pp.601–10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17963995>.
- Risenhoover, K., Bailey, J. y Wakelyn, L., 1988. Assessing the Rocky Mountain bighorn sheep management problem. *Wildlife Society Bulletin*, 16(3), pp.346–352. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/3782116>.
- Rocha, M. y Gasca, J., 2007. Ecología Molecular de la Conservación. En L. Eguiarte-Frums, V. Souza, y X. Aguirre, eds. *Ecología Molecular*. México. D.F.: INE, SEMARNAT, pp. 251–278.
- Rodriguez-Rodriguez, M.A., 2008. *Caracterización y Análisis de la Diversidad Genética de Borrego Cimarrón (Ovis canadensis) de Sonora y B. C. S., México, con Fines de Manejo Sustentable*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rogers, A.R. y Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), pp.552–69. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1316531>.
- Rosetti, N. y Remis, M.I., 2012. Spatial genetic structure and mitochondrial DNA phylogeography of Argentinean populations of the grasshopper *Dichroplus elongatus*. *PloS one*, 7(7), p.e40807. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3408447&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 7, 2014].
- Rzendowski, J., 2006. *Vegetación de México*. Mexico: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en: [http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx\\_Cont.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf).
- Sánchez, O. *et al.*, 1998. *Guía de identificación para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la CITES*, México, D.F: Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) ) - Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).

- SEMARNAP, 2000a. *Programa de Manejo Reserva de la Biosfera el Vizcaíno, México* 1a ed., México. D.F.: Instituto Nacional de Ecología.
- SEMARNAP, 2000b. *Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable del Borrego Cimarrón (Ovis canadensis) en México*, México. D.F.
- SEMARNAT, 2010. Especies prioritarias de fauna registradas en Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) extensivas. *Compendio de Estadísticas Ambientales*. Disponible en: [http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/10.100.13.5\\_8080/ibi\\_apps/WFServlet932e.html](http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/10.100.13.5_8080/ibi_apps/WFServlet932e.html).
- Shackleton, D., 1985. *Ovis canadensis*. *Mammalian Species*, 230, pp.1–9.
- Smith, N.S., 1988. Desert Bighorn Sheep: A Guide to Selected Management Practices. *Biological Report*, 88(35).
- Sushkin, P., 1925. The wild sheep of the Old World and their distribution. *Journal of Mammalogy*, 6(3), pp.145–157. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/1373624>.
- Taberlet, P. *et al.*, 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7, pp.453–464. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-294x.1998.00289.x/abstract>.
- Taberlet, P., 1996. The Use of Mitochondrial DNA Control Region Sequencing in Conservation Genetics. In T. B. Smith y R. K. Wayne, eds. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. New York: Oxford University Press, p. 504.
- Tamura, K. *et al.*, 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), pp.2731–9. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3203626&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Tapia-Landeros, A., 1997. *Cimarrón: del culto a la cultura del borrego*, Mexicali, Baja California: UABC. Disponible en: [http://books.google.com.mx/books?id=BqhPbloMtSQC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=BqhPbloMtSQC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false).
- Tarango, L.A. y Krausman, P.R., 1997. Desert Bighorn Sheep in Mexico. En R. M. Lee, ed. *Desert Bighorn Council Transactions. Volume 41*. Phoenix, Arizona: Arizona Game and Fish Department, pp. 1–7.
- Taylor, R.W. y Turnbull, D.M., 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6, pp.389–402.
- Templeton, A.R., 2006. *Population Genetics and Microevolution Theory*, New Jersey: John Wiley & Sons.

- Templeton, A.R., Crandall, K.A. y Sing, C.F., 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132, pp.619–633. Disponible en: <http://www.genetics.org/content/132/2/619.short>.
- Toro, M. a., Fernández, J. y Caballero, A., 2009. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*, 120(3), pp.174–195. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141308002011>.
- Tserenbataa, T. *et al.*, 2004. A population genetic comparison of argali sheep (*Ovis ammon*) in Mongolia using the ND5 gene of mitochondrial DNA; implications for conservation. *Molecular ecology*, 13(5), pp.1333–1339. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15078469>.
- Vaughan, T., Ryan, J. y Czaplewski, N., 2011. *Mammalogy* 5a ed., USA: Jones & Bartlett Learning.
- Wakeling, B., 2009. *Desert Bighorn Council Transactions. Volumen 50*, Phoenix, Arizona.
- Whittaker, D., Ostermann, S. y Boyce, W., 2004. Genetic variability of reintroduced California bighorn sheep in Oregon. *Journal of Wildlife Management*, 68(4), pp.850–859. Disponible en: [http://www.bioone.org/doi/abs/10.2193/0022-541X\(2004\)068%5B0850:GVORCB%5D2.0.CO%3B2](http://www.bioone.org/doi/abs/10.2193/0022-541X(2004)068%5B0850:GVORCB%5D2.0.CO%3B2).
- Wisely, S.M. *et al.*, 2007. Genotypic and phenotypic consequences of reintroduction history in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Conservation Genetics*, 9(2), pp.389–399. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10592-007-9351-x>.
- Woodford, M.H. y Rossiter, P., 1994. Disease risks associated with wildlife translocation projects. En P. J. Olney, G. M. Mace, y A. Feistner, eds. *Creative conservation: Interactive Management of Wild and Captive Animals*. London: Chapman & Hall, pp. 178–200.
- Worley, K. *et al.*, 2004. Population genetic structure of North American thinhorn sheep (*Ovis dalli*). *Molecular ecology*, 13(9), pp.2545–56. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15315669>.
- Wright, S., 1969. Evolution and the Genetics of Populations, vol 2. En *The Theory of Gene Frequencies*. Chicago, IL: Univ. Chicago Press.
- Wu, C.H. *et al.*, 2003. Mitochondrial control region sequence variation within the argali wild sheep (*Ovis ammon*): evolution and conservation relevance. *Mammalia*, 67(1), pp.109–118. Disponible en: <http://www.degruyter.com/view/j/mamm.2003.67.issue-1/mamm.2003.67.1.109/mamm.2003.67.1.109.xml>.
- Zurita-Vázquez, J.C., 2011. Evaluación de la Dieta y Hábitat del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis weemsi*) en la Isla del Carmen, Baja California Sur, México. En *Seminarios de Posgrado*. Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León, pp. 207–216.

## 11 Anexos

### 11.1 Protocolo de extracción de ADN

Protocolo para la extracción de tejido de museo o desecado usando Kit de Quiagen

Consideraciones previas:

El ADN obtenido a partir de tejido de museo en general estará degradado y posiblemente traiga consigo contaminantes que inhiban la reacción de PCR. En principio se debe evitar usar el vórtex en altas revoluciones y de ser posible, en los pasos donde se requiera homogenizar es mejor invertir los tubos o pipetear suavemente. Es recomendable empezar la extracción con poco tejido para evitar dentro de lo posible la presencia de inhibidores de PCR, en este caso, entre menos tejido inicial, mejor.

1. Cortar un trozo de tejido (5x5mm aprox.) y colocarlo en un tubo eppendorf de 1.5ml.
2. Agregar 1ml de PBS (8g NaCl, 0.2g KCl, 1.44g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.24g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, aforar en 800ml, ajustar pH a 7.4, esterilizar ), vortex durante 15seg, desechar el líquido, y repetir hasta que la solución deje de enturbiarse.
3. Agregar nuevamente 1 ml de PBS, vortex 15 seg, sellar el tubo con parafilm y dejar reposando a 55°C toda la noche, para hidratar el tejido.
4. Verificar que la textura del tejido sea suave (debe observarse un incremento de su volumen debido a la hidratación), de lo contrario desechar el PBS y repetir el paso 3 hasta que el tejido se hidrate.
5. De ser posible cortar el tejido en trozos aún más pequeños y colocarlos en un tubo nuevo.
6. Agregar 500µl de solución de lisis de Pääbo (0.01M TrisHCl pH 8.0, 0.01M EDTA pH8.4, 0.1M NaCl, 0.039M DTT, 2% SDS, 50mg/ml Proteinasa K).
7. Agregar 10µl de proteinasa K (10mg/ml) y 10µl de DTT 0.5M. Sellar el tubo e incubar a 55°C toda la noche con agitación periódica. El tejido debe estar completamente digerido, de lo contrario agregar 10 µl de proteinasa K (10mg/ml) y 5µl de DTT 0.5M y continuar la digestión hasta que la solución no tenga sólidos visibles.
8. Agregar 200 µl de buffer AL y 200µl de etanol al 100%, homogeneizar pipeteando suavemente y aplicar la solución a la columna.
9. Centrifugar a 8,000 rpm por 1 min, desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.

• Nota: En caso de que la columna no alcance a mantener el volumen de la solución de lisis, centrifugar y vaciar el tubo de colecta, y posteriormente aplicar el volumen de solución de lisis restante y volver a centrifugar.

10. Colocar la columna en un tubo de colecta nuevo, agregar 500µl de buffer AW1 wash y centrifugar a 8,000 rpm por un min, desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.

11. Agregar 500µl de buffer AW2 wash y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min, desechar lo centrifugado y colocar el tubo en el mismo tubo de colecta.

12. Centrifugar a 14,000 rpm por min y desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.

13. Colocar la columna en un tubo nuevo y etiquetado de 1.5ml, es necesario cortar la tapa del tubo, por lo que es recomendable etiquetar tanto el tubo como la tapa.

14. Eluir el ADN con 50µl de buffer AE precalentado a 65°C, incubar la columna a TA por 10 min y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min.

15. Reaplicar la solución con el ADN a la columna, incubar 3 min a TA y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min.

16. Es posible hacer otra elución, no obstante ésta tendrá una cantidad menor de ADN, aunque también contendrá menos inhibidores (en caso de que estos estén presentes en la solución con mayor concentración).

17. Hacer alícuotas y almacenar la solución con el ADN.

## 11. 2 Tabla del programa de termociclado para cada marcador utilizado

Marcador	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Mit1-R1 425	95°C	3 min	1
F3-R3 549	94°C	30 seg	32
	54°C / 63°C	45 seg	
	72°C	2 min	
	72°C	7 min	1

Marcador	Temperatura	Tiempo	Ciclos
ND2f-	95°C	3 min	1
ND2r	94°C	30 seg	30
	54°C / 63°C	45 seg	
	72°C	2 min	
	72°C	7 min	1

## 11. 3 Árbol de Máxima Verosimilitud

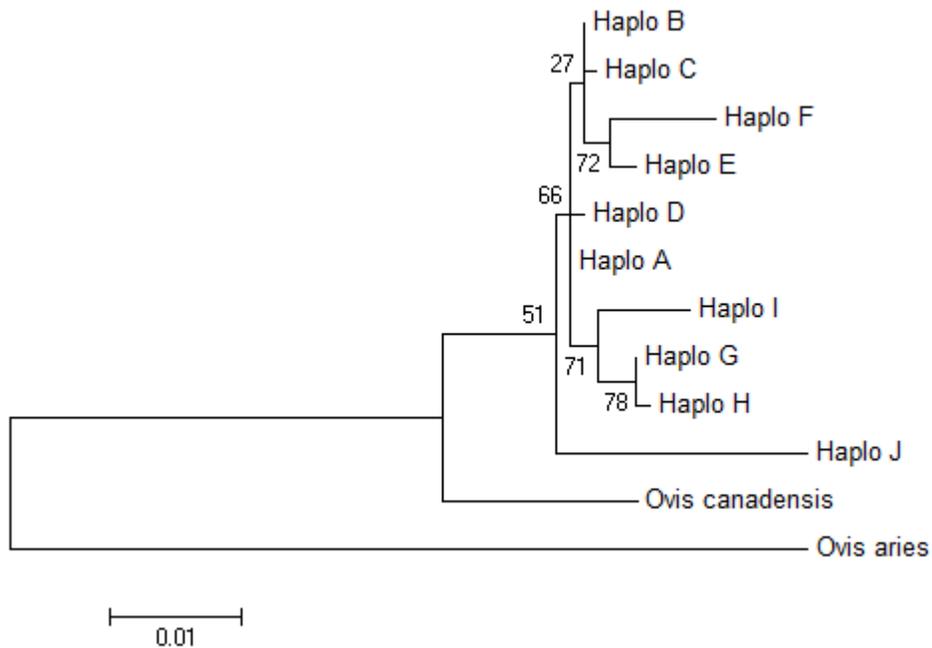


Figura 18. Árbol de máxima verosimilitud.

## 11.4 Análisis de probabilidad mediante remuestreo

Remuestreo realizado suponiendo que la población de la Isla del Carmen contaba con al menos dos haplotipos que se encontraban en distintas frecuencias. De ellos se obtuvo la posibilidad de obtener en un remuestreo el 100% de individuos de un solo haplotipo suponiendo las distintas frecuencias de ellos. Observamos que sólo al presentarse el haplotipo en una frecuencia del 90% (Fig. 20) es posible obtenerlo en una frecuencia del 100% al realizar un remuestreo de 23 individuos.

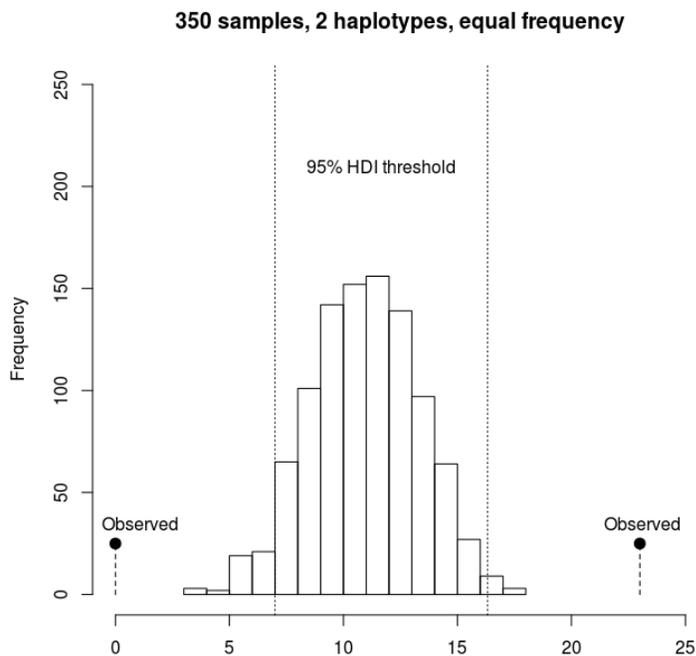


Figura 19. Remuestreo de 23 individuos en una población que presenta 2 haplotipos en igual frecuencia. El haplotipo observado sale de las probabilidades de presentarse en un 100% en el remuestreo.

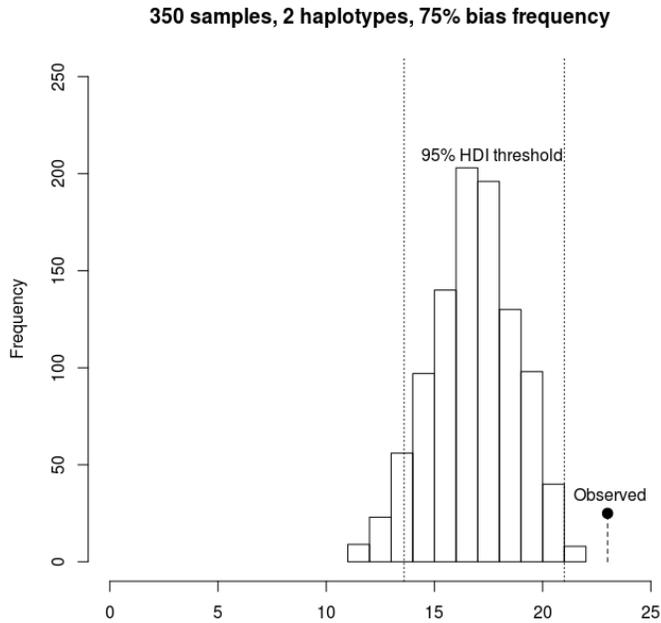


Figura 20. Remuestreo de 23 individuos en una población que presenta 2 haplotipos en una frecuencias de 25% y 75%. El haplotipo observado sale de las probabilidades de presentarse en un 100% en el remuestreo.

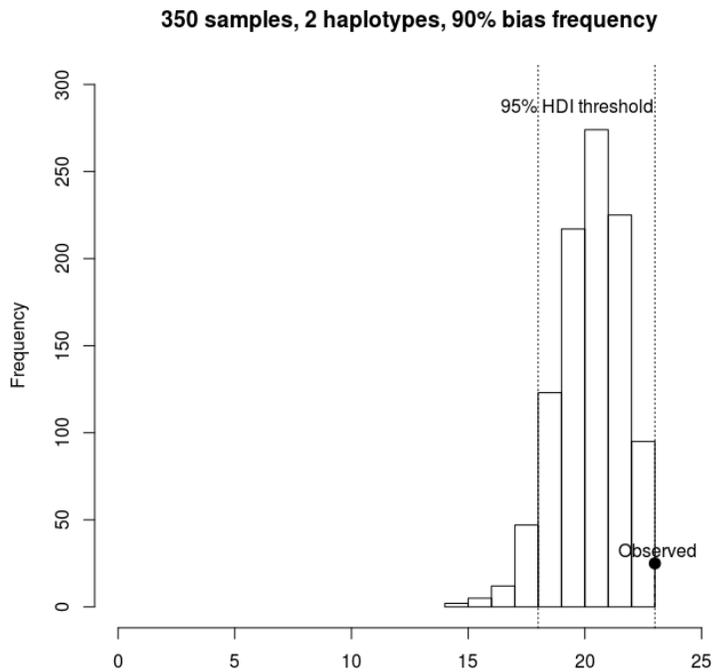


Figura 21. Remuestreo de 23 individuos en una población que presenta 2 haplotipos en frecuencias de 10% y 90%. El haplotipo observado incrementa las posibilidades de presentarse en un 100% en el remuestreo.