



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN DEL BISONTE DE LA PRADERA
(*BISON BISON BISON*) Y DEL BORREGO CIMARRÓN (*OVIS CANADENSIS*)
EN MÉXICO.**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
JAIME GASCA PINEDA**

**TUTOR: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

MÉXICO, D.F. MARZO DE 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.

Esta tesis se realizó bajo la asesoría del Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, en el Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología de la Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (beca: 199870).

El jurado de examen doctoral estuvo constituido por:

Presidente: Dra. Ella Vázquez Domínguez

Vocal: Dra. Livia Socorro León Paniagua

Vocal: Dra. Blanca Estela Hernández Baños

Vocal: Dr. Luis David Alcaraz Peraza

Secretario: Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México.
- Al Instituto de Ecología.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgar la beca 199870 para realizar los estudio de posgrado.
- Al Doctorado en Ciencias Biomédicas.
- Al Dr. Luis Eguiarte Fruns y la Dra. Valeria Souza Saldívar por permitirme trabajar en su laboratorio.
- A los miembros del comité tutorial: Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales y Dr. Gerardo José Ceballos González.
- Al Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental.
- A la Dra. Erika Aguirre Planter, la M. en I.B.B. Laura Espinosa Asuar, al M.V.Z. Gabriel Manuel Rosas Barrera, la M. en C. Patricia Padilla y a Silvia Barrientos Villanueva por el apoyo técnico brindado durante el desarrollo del proyecto.
- Al Ing. Florentino Chillopa Morales, Subdirección de Gestión para el Aprovechamiento en Vida Libre SEMARNAT, al Ing. Alejandro Treviño Espinosa del Programa de Reintroducción de Borrego Cimarrón CEMEX, al M.V.Z. Benjamín González Brizuela, la M. en C. Ivonne Cassaigne Guasco, y al Ecólogo Jesús Armando Aparicio Navarro por la facilitación de las muestras.
- A Felipe Rodríguez, a la UMA Rincón de la Madera, la UMA La Mesa, y el Gobierno Seri por su permiso para llevar a cabo la colecta de muestras en Isla Tiburón.
- Al Director del Zoológico de Chapultepec, M.V.Z. Rafael Tinajero Ayala por proporcionar la muestra pelo de bisonte.

Agradecimientos a título personal

A mi familia

A Paty

A mis amigos

A mis alumnos

A las niñas y porfi

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Presentación.....	3
Capítulo 1. Introducción general.....	5
Diversidad genética, evolución y la conservación de las especies.....	5
La familia <i>Bovidae</i> y sus especies en México.....	7
Capítulo 2 Introgresión de genes de ganado vacuno en la población de bisonte de la pradera (<i>Bison bison bison</i>) en Janos Chihuahua, México.....	9
El bisonte de la pradera, descripción y biología básica.....	9
Evolución.....	11
Ecología y distribución geográfica.....	12
Problemática.....	14
Cacería y la reducción de las poblaciones del bisonte.....	14
Introgresión de genoma de ganado en las poblaciones de bisonte	15
Población de estudio.....	16
El bisonte de la pradera en México.....	16
Sitio de estudio.....	16
Justificación y relevancia del proyecto.....	17
Objetivos.....	18
Objetivos generales.....	18
Objetivos particulares.....	18
Método.....	19
Muestreo y técnicas moleculares.....	19
Análisis de los datos.....	20
Resultados.....	21
Identidad de la secuencia obtenida.....	21
Variación genética de las secuencias analizadas.....	23

Discusión.....	24
La introgresión como amenaza para la especie.....	26
Conclusiones.....	27
Perspectivas.....	37

Capítulo 3 Genética de poblaciones, manejo y conservación del borrego cimarrón en México..... 29

El borrego cimarrón, descripción y biología básica.....	29
Distribución geográfica.....	32
Ecología del borrego cimarrón del desierto.....	33
Evolución.....	34
Problemática y amenazas.....	35
El borrego cimarrón en México.....	37
Antecedentes de diversidad genética.....	39
Antecedentes de genética de poblaciones de borrego cimarrón en México.....	41
Justificación y relevancia del estudio.....	41
Objetivos.....	52

Primera parte: Evaluación de la diversidad genética y tamaño efectivo en el borrego cimarrón de Isla Tiburón. La historia detrás de la diversidad genética y su utilidad para el manejo..... 43

La población de borrego cimarrón de Isla Tiburón como modelo de estudio.....	43
El estudio de la variación genética en poblaciones aisladas y el tamaño efectivo.....	44
Objetivos.....	45
Objetivo general.....	46
Objetivos particulares.....	46
Método.....	46
Obtención de muestras y extracción de ADN.....	46
Amplificación y genotipación de marcadores moleculares.....	47
Análisis de los datos.....	48

Estadísticos de resumen y estructura genética.....	48
Estimación del tamaño efectivo.....	49
Selección de escenarios y análisis de ABC (Approximate Bayesian Computation).....	51
Comparación con otros artiodáctilos.....	52
Resultados.....	53
Diversidad y estructura genética.....	53
Demografía y tamaño efectivo.....	56
Comparaciones con otros artiodáctilos.....	57
Discusión.....	60
Diversidad genética y tamaño efectivo.....	62
El tiempo de cambio del tamaño efectivo.....	64
Conclusiones.....	66

Artículo publicado: “Effective Population Size, Genetic Variation, and Their Relevance for Conservation: The Bighorn Sheep in Tiburon Island and Comparisons with Managed Artiodactyls”	67
--	-----------

Segunda parte: Diversidad genética y manejo de <i>O. canadensis</i> en México.....	92
El manejo y aprovechamiento del borrego cimarrón en México.....	92
Objetivos.....	94
Método.....	95
Obtención de muestras y amplificación de marcadores moleculares.....	95
Análisis de los datos.....	97
Resultados.....	99
Diversidad genética.....	99
Estructura genética.....	101
Endogamia en las poblaciones de cautiverio de Sonora.....	103
Tamaño efectivo e historia demográfica.....	104
Discusión.....	105

Diversidad genética de <i>O. canadensis</i> en México.....	105
Estructura genética dentro y entre Estados.....	106
Historia natural y la diversidad genética del borrego cimarrón.....	107
Recomendaciones para el manejo de <i>O. Canadensis</i>	110
Conclusiones.....	111
Conclusiones generales y perspectivas.....	113
Bibliografía.....	115
Apéndice.....	130

Resumen

La genética de poblaciones es una herramienta fundamental en el diseño de estrategias para la conservación. En México, se distribuyen dos especies de bóvidos de suma importancia ecológica y cinegética: el bisonte de la pradera y el borrego cimarrón. Ambas especies se encuentran en categorías de riesgo y protección. Diversos antecedentes han demostrado la utilidad de los análisis de variación genética para la conservación y manejo de estas especies. No obstante, en México se han hecho pocos estudios al respecto. En el presente trabajo se llevaron a cabo análisis de genética de la conservación en las dos especies. En el caso del bisonte de la pradera, se encontró la presencia de individuos híbridos con ganado en la población de la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes. Los resultados sugieren además, que han ocurrido múltiples eventos de introgresión con distintas razas de ganado. Asimismo, se concluye que no es recomendable considerar esta población con fines de reintroducción hasta tener el diagnóstico de la población completa. En el caso del borrego cimarrón, se encontró que la especie en México cuenta con niveles relativamente bajos de diversidad. Esto se debe a una combinación de factores históricos e influencia antropogénica reciente. También se encontró que las prácticas de manejo en la población de Sonora han tenido un impacto moderado en la diversidad genética. En la población de BCS se encontró que existen niveles de diversidad genética muy bajos, aunque éstos pueden ser explicados por la reciente historia de colonización de la especie en la península. Esto pudo mitigar los efectos del manejo del borrego en el Estado. Sin embargo, los resultados sugieren que estas poblaciones pueden ser susceptibles a la endogamia y deriva génica debido a sus niveles bajos de diversidad. Finalmente, se resalta la necesidad de realizar análisis de genética de poblaciones para la conservación y manejo de las especies.

Abstract

Population genetics is a useful tool for planning conservation and management strategies. The prairie bison and the bighorn sheep are ecologically and economically important bovid wild species distributed in Mexico. Both species are significantly threatened and subject to a special protection status. It has been reported that the evaluation of the genetic diversity is useful for conservation and management purposes. However, information on that issue is nearly lacking in Mexico for the bighorn sheep and the prairie bison. Therefore, the present study focused on a conservation genetics analysis of both species. On the one hand, we found a hybrid individual (with cattle) in the population of the “Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes” of prairie bison. Furthermore, our findings suggest that several introgression events had occurred in this species with various cattle races. Congruently, we advise not to use this population as a source for further reintroductions. On the other hand, our results revealed that the bighorn sheep in Mexico has low genetic diversity. This genetic levels might be the result of historic events and a recent anthropogenic influence. Besides, the management practices in the population of Sonora have had a moderate impact on its genetic diversity. In the population of BCS, we observed very low genetic diversity levels, which can be explained by the recent colonization of this population to the peninsula. Perhaps, the historical low genetic diversity levels minimized the negative effects of the management of this species in BCS. Nevertheless, our results imply these populations are vulnerable to inbreeding and genetic drift. Lastly, we emphasize the importance of performing population genetic analyses for designing adequate management and conservation plans.

Presentación

La extinción de las especies es un proceso natural (Raup 1992). No obstante, en la actualidad el planeta experimenta un evento masivo de extinción causado por el ser humano moderno. A este respecto, se ha sugerido que la variación genética es crucial para la persistencia de las poblaciones, por lo que su estudio es necesario para el diseño de estrategias para la conservación (Frankel y Soulé 1981; Soulé y Mills 1992; Frankham 2005). Como consecuencia, la genética de poblaciones aplicada a la conservación ha adquirido una gran relevancia en los últimos años. Se han realizado numerosos análisis que han permitido comprender los procesos ecológicos y evolutivos de las especies y con ello proponer estrategias de manejo y conservación en numerosas especies (Rocha y Gasca 2009; Eguiarte y Piñero 1990). Los ejemplos van desde mariposas (Keller y Waller 2002) y ardillas (Ochoa *et al.* 2012), hasta orquídeas (Wong y Sun 1999), pastos (Gustafson *et al.* 2004) y líquenes (Zoller *et al.* 1999).

El presente trabajo es un estudio de genética de la conservación de las dos especies de bóvidos silvestres mexicanos: el bisonte de la pradera (*Bison bison bison*) y el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*). Ambas especies enfrentan amenazas de origen antropogénico y se encuentran en categorías de riesgo en México y a nivel mundial.

Esta tesis está constituida por cuatro capítulos. El primer capítulo es una introducción a la genética de la conservación y las características generales de la familia *Bovidae*. El segundo capítulo presenta un análisis de la presencia de bisontes con ancestría híbrida de ganado en una población silvestre de México. Para este análisis, se obtuvo una muestra bisonte. Los resultados mostraron que el individuo en cuestión es un

híbrido de bisonte con ganado vacuno. Debido a que la distribución de la población de estudio abarca territorio en E.U.A. y en México, el proyecto presentó complicaciones logísticas que imposibilitaron coleccionar más muestras. No obstante, los resultados obtenidos fueron importantes para la toma de decisiones sobre la reintroducción de la especie. El tercer capítulo incluye un análisis de diversidad genética del borrego cimarrón. La primera parte del capítulo analiza la diversidad genética y tamaño efectivo de la población de Isla Tiburón. La segunda parte aborda un análisis de genética de poblaciones a escala global del borrego cimarrón en México, incluyendo poblaciones silvestres de Sonora y Baja California Sur. Adicionalmente, se estudiaron distintas poblaciones fundadas artificialmente en ambos estados. El último capítulo incluye las conclusiones generales y las perspectivas para el análisis de la genética de poblaciones del bisonte y el borrego cimarrón en México.

El objetivo general de esta tesis fue llevar a cabo un análisis de genética de la conservación en las especies mencionadas, así como elaborar propuestas de manejo que minimicen el riesgo de extinción por factores genéticos debido al impacto antropogénico.

A partir del presente trabajo se publicó un artículo (Gasca-Pineda *et al.* 2013) en la revista arbitrada e indexada PloSOne (Web of Science v5.16.1) correspondiente a la primera parte del Capítulo 3 (Pag.). También se encuentra en preparación un segundo artículo de la segunda parte del Capítulo 3 (Pag.). Finalmente, se está llevando a cabo el análisis del tema del Capítulo 2 (hibridación en bisontes) con un mayor número de muestras ($N=40$), con lo cual se obtendrá una publicación adicional.

Capítulo 1: Introducción general

Diversidad genética, evolución y la conservación de las especies

La evolución se puede definir como el proceso que origina a la diversidad en todo nivel de organización biológica, incluyendo especies, organismos individuales y moléculas. (Mayr 1976; Futuyma 1979; Gould 2002). Considerando esta definición resulta intuitivo pensar que todo estudio biológico debe estar fundamentado en la teoría evolutiva (Dobzhansky 1973), incluyendo por supuesto, a la biología de la conservación. Dado que la variación genética es la materia prima de la evolución (Frankel y Soule 1981), la genética de poblaciones debería ser una herramienta fundamental para cualquier estudio en biología de la conservación. Sin embargo, en la práctica esta afirmación no es trivial. A mediados de los años 90 empezó un debate acerca de la relevancia de los datos de variación genética en la conservación de las especies (Lande 1998). El argumento principal suponía que los efectos genéticos en la viabilidad de una población son a largo plazo, y que en el caso de especies o poblaciones amenazadas, factores como la destrucción del hábitat o la demografía pueden llevar a las poblaciones a la extinción mucho antes de que los factores genéticos tengan efecto (Lande 1988). No obstante, en actualidad éste debate ha perdido relevancia, y se reconoce que las estrategias de conservación efectivas deben tomar en cuenta tanto los factores genéticos como los no genéticos (Boyce 2002; Spielman *et al.* 2004). Asimismo, Mills y Smouse (1994), mencionan que los estudios de viabilidad poblacional no deben marcar una dicotomía entre los factores genéticos y las fluctuaciones demográficas y ambientales, como causa de la extinción. Estos autores hacen énfasis en que tanto la genética como la ecología deben ser tomadas en cuenta, así como las interacciones entre ellas. Como

consecuencia, la importancia de la diversidad genética en el manejo y conservación de especies ha sido un tópico central en la biología de la conservación durante las últimas décadas (Caughley 1994; Boyce 2002; Frankham 2005).

La genética de poblaciones aplicada a la conservación o genética de la conservación se define como el uso de la teoría de la genética de poblaciones para preservar a las especies como entidades dinámicas capaces de enfrentarse al cambio ambiental (Frankham 1995; Frankham *et al.* 2010). De manera general, los objetivos de la genética de la conservación son estudiar la diversidad genética para poder evaluar fenómenos de origen genético que pueden poner en riesgo de extinción a las especies (Hedrick y Miller 1992). Entre estos fenómenos se pueden señalar los efectos deletéreos de la endogamia en la reproducción y sobrevivencia (depresión por endogamia), la fragmentación de las poblaciones y reducción del flujo genético con la consecuente pérdida de diversidad genética por deriva génica y la introgresión de especies que naturalmente se encuentran aisladas. Asimismo, la genética de la conservación aborda problemas en el manejo y el diseño de estrategias de conservación, como la adaptación genética al cautiverio y sus efectos en la reintroducción, resolver incertidumbres taxonómicas, así como análisis forenses (Ryder 1986, Moritz 1994; Rhymer y Simberloff 1996; Soltis y Gitzendanner 1999; Baker *et al.* 2000; Fraser y Bernatchez 2001; Shivji *et al.* 2002). En el caso particular de las poblaciones en cautiverio, los factores estocásticos (tanto genéticos como no genéticos) pueden acelerar su decline demográfico, y llevarlas hacia los llamados “vórtices de extinción” (Primack *et al.* 2001; Frankham *et al.* 2002). El vórtice de extinción se define como la retroalimentación positiva de los efectos de la deriva génica y la endogamia en una población pequeña que dan como resultado una población cada vez más pequeña junto con mayor endogamia y deriva génica, lo cual

culmina con la extinción de la población. Para entender mejor las consecuencias de los tamaños pequeños, es necesario identificar si la población ha sufrido reducciones drásticas recientes en su tamaño. Por esta razón se han desarrollado métodos estadísticos para inferir los cambios en el pasado y modelos que ayudan a distinguir las razones ecológicas de la reducción (Rocha y Gasca 2008; Beaumont 2001).

La familia *Bovidae* y sus especies en México

La familia *Bovidae* pertenece al orden Artiodactyla, en donde se agrupan también las familias de los cerdos (*Suidae*), hipopótamos (Hipopotamidae), camellos y llamas (*Camelidae*), ciervos ratón (*Tragulidae*), ciervos (*Cervidae*), jirafas (*Giraffidae*) y berrendos (*Antilocapridae*) (Walker *et al.* 1964; Vaughan *et al.* 2000). Aunque este orden presenta una gran diversidad de formas y tamaños, sus integrantes presentan características distintivas en común que los definen como grupo. Presentan un número par en los dedos de sus patas (excepto en algunos miembros de la familia *Tayassuidae*) y el eje principal de la extremidad atraviesa entre sus dígitos. Los incisivos superiores se encuentran reducidos o ausentes, lo mismo que los caninos, mientras que sus molares son generalmente más complejos que los premolares, y presentan coronas bajas con cúspides. Los huesos nasales no se encuentran expandidos posteriormente. Algunas familias presentan estómagos multicamerados que pueden estar divididos de dos a cuatro cámaras (Walker *et al.* 1964; Vaughan *et al.* 200).

La familia *Bovidae* representa el grupo más grande y diverso de ungulados, es decir, mamíferos con pezuñas (Walker *et al.* 1964; Ceballos y Oliva 2005). La mayoría de bóvidos habitan en pastizales, terrenos con maleza y desiertos, pero llegan a habitar en

pantanos y tundras. Los miembros de esta familia son rumiantes, es decir que su estómago se encuentra dividido en cuatro cámaras (Walker *et al.* 1964; Nowak 1991). Presentan cuernos que varían en forma y tamaño, y en general ambos sexos los presentan. Excepto por el género *Tetracerus*, todas las especies de la familia presentan dos cuernos, los cuales se componen de un núcleo óseo unido al cráneo y crecen durante toda su vida (Walker *et al.* 1964). Muchas especies de bóvidos presentan comportamientos gregarios en rebaños de distintos tamaños, aunque es frecuente que algunos individuos, principalmente machos, viven aislados. Presentan glándulas en las pezuñas que segregan un aroma que les permite identificar su rebaño (Walker *et al.* 1964). Dentro de su estructura social, algunos pueden presentar harems, sin embargo otras especies son monógamas. La familia incluye 45 géneros y 135 especies, entre ellas al ganado vacuno (*Bos taurus*), ovejas (*Ovis spp*), impalas (*Aepyceros spp*), bisontes (*Bison spp*) (Vaughan *et al.* 2000; Reynolds *et al.* 2003). Históricamente, los bóvidos han sido de gran utilidad para el hombre, pues han servido como comida y vestido, y en los últimos siglos han tenido un fuerte interés cinegético.

En estado silvestre, esta familia está representada en México sólo por dos especies pertenecientes a dos géneros, el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*, Shaw 1804) y el bisonte de la pradera (*Bison bison*, Linnaeus 1758) (Ceballos y Oliva 2005). Ambos se distribuyen en la parte norte del país, teniendo el borrego cimarrón una distribución amplia que abarca toda la península de Baja California, así como Sonora, Coahuila y Chihuahua, mientras que el bisonte se encuentra en una pequeña población silvestre en el norte de Chihuahua, en la frontera con Estados Unidos.

Capítulo 2: Introgresión de genes de ganado vacuno en la población de bisonte de la pradera (*Bison bison bison*) en Janos Chihuahua, México.

El bisonte de la pradera, descripción y biología básica

El bisonte de la pradera, bisonte americano o búfalo americano (*Bison bison*, Linnaeus 1758) es el mamífero terrestre nativo de América de mayor tamaño (Reynolds *et al.* 2003; COSEWIC 2004). De hecho, los bisontes machos pueden pesar hasta 860 kgs, y llegar a medir hasta 1.80 metros a los hombros (Halloran 1961; Reynolds *et al.* 2003).

Los bisontes poseen características morfológicas que les confieren una apariencia inconfundible (Fig. 2.1). Su cabeza es grande, con una frente amplia y área nasal ancha y corta (Hall y Kelson 1959; Reynolds *et al.* 2003; Pacheco 2005). Sus cuernos son cortos, crecen a los lados de la cabeza y se curvan hacia adentro (Reynolds *et al.* 2003). Presentan una joroba en los hombros que da la impresión de unos cuartos traseros desproporcionadamente cortos. Su cola es corta con un mechón de pelo en la punta, y el color del pelaje del cuerpo es café, aunque varía según la estación (Reynolds *et al.* 2003). Tienen dimorfismo sexual marcado, los machos presentan una barba distintiva formada por pelos largos y rizados, y las hembras son un 10% menos pesadas que los machos con cuernos más pequeños (Reynolds *et al.* 2003; Kelsall *et al.* 1978).



Figura 2.1 El Bisonte de la pradera (*Bison bison bison*). Arriba, esquema de un macho adulto, abajo, una cría. Imagen tomada de <http://www.conabio.gob.mx> (Sánchez *et al.* 1998).

El género *Bison* consta de dos especies existentes, *Bison bison*, el bisonte americano y *Bison bonaus*, el bisonte europeo (McDonald 1981; Corbet y Hill 1991; Wilson y Reeder 2005; Burzyńska *et al.* 1999). Tradicionalmente, la especie *Bison bison* se subdivide en dos subespecies, el bisonte de la pradera (*B. b. bison*) y el bisonte del bosque (*B. b. athabascae*), aunque en la actualidad el ITIS (Geist 1991; Integrated Taxonomic Information System) no reconoce la validez taxonómica de tales subespecies (ITIS 2014).

En estado silvestre, los bisontes pueden vivir entre 15 y 20 años, dependiendo de la depredación y presiones de cacería, mientras que en cautiverio viven hasta 40 años (Newell y Sorin 2003). Las hembras alcanzan el tamaño adulto a los cuatro años, aunque pueden seguir creciendo hasta los seis, mientras que los machos pueden continuar creciendo hasta los 10 años (Banfield 1974). El periodo de gestación es un poco mayor a nueve meses, pero puede durar hasta 300 días, dando a luz a una o dos crías (Dorn 1995; Towne 1999). La especie es poligínica, y su éxito reproductivo se relaciona con su jerarquía. Dentro de un rebaño de bisontes existe una estructura social dividida en

grupos maternos y de machos. No obstante, los grupos son inestables y dependen de la disponibilidad de alimento. Los machos suelen encontrarse en grupos reducidos, aunque son solitarios la mayor parte del año (Van Vuren 1983). Tanto los machos como las hembras muestran una dominancia linear dentro del rebaño, mientras que en los machos la jerarquía se relaciona con el tamaño, en las hembras la edad es el factor principal (Green y Rothstein 1993). Aunque los bisontes pasan la mayor parte del día pastando y rumiando, durante los periodos de cópula pueden volverse muy activos, y los machos especialmente irritables (McHugh 1972). La competencia por el acceso a las hembras es uno de los comportamientos mejor documentados en los bisontes debido a la espectacularidad de los combates. Los enfrentamientos no siempre llegan a un encuentro violento, al principio se muestran señales de desafío, en donde uno de los contrincantes puede indicar sumisión, evitando con esto la batalla. En el caso de que ninguno de los machos muestre señales de sumisión empieza un enfrentamiento violento (McHugh 1972). A pesar de lo agresivo de este comportamiento, en la mayoría de casos se establece la victoria sin infligir serias heridas a ninguno de los animales. Los bisontes presentan en la cabeza un denso escudo de pelo que absorbe la fuerza de los impactos, y la forma de los cuernos permite un combate “seguro” entre los machos. No todas las batallas se dan por la disputa por las hembras, sino también para establecer un orden de dominancia entre machos (McHugh 1972).

Evolución

Los registros fósiles más antiguos del género *Bison* se han encontrado en China e India (Geist 1971). Los bisontes colonizaron el continente americano a través del puente de Bering durante el Plesitocénico hace 300,000-130,000 años, y posteriormente se

desplazaron al centro de Norteamérica hace 130,000–75,000 años (McDonald 1981; Pielou 1992; Shapiro *et al.* 2004). Se ha propuesto que los bisontes de América evolucionaron de alguna de las especies *B. antiquus* ó *B. occidentalis*, o bien de una cruce de ambas (Guthrie 1970; Wykoff y Dalquest 1997, Vaughan *et al.* 2000). Los registros fósiles indican que durante el pleistoceno el género *Bison* era muy abundante en América, ya que los fósiles se extienden desde Norteamérica hasta el Salvador (Vaughan *et al.* 2000).

Se ha documentado que factores naturales como los ríos y el fuego han influenciado históricamente el tamaño y distribución del bisonte (McHugh 1972). Aunque, como en otras especies de mamíferos, los cambios climáticos del Pleistoceno fueron un factor decisivo en su historia evolutiva (Pileou 1991; Lessa *et al.* 2000). Shapiro *et al.* (2004) analizaron secuencias de la región control mitocondrial y encontraron que su diversidad genética se restringe a 12,000 años antes del presente, lo cual sugiere que la especie sufrió una reducción muy severa de su tamaño poblacional durante este periodo, y es consistente con la fecha de extinciones pleistocénicas de la megafauna en otras especies de Norteamérica.

Ecología y distribución geográfica

El bisonte de la pradera habita en áreas con pastizales y sistemas de pradera (Reynolds *et al.* 2003; COSEWIC 2004). El hábitat es caracteriza por sus requerimientos nutricionales, disponibilidad de forraje, profundidad de la nieve, historia de incendios, y la evasión de depredadores (Shaw y Carter 1990; Larter y Gates 1991). Muestran afinidad por las colonias de perritos de las praderas (*Cynomys*) debido que ambas especies

prefieren ciertos tipos de vegetación, en particular áreas de alta concentración de gramíneas (McHugh 1958; Coppock *et al.* 1983). Aunque el bison muestra preferencia por pastizales y praderas, son generalistas, y si bien se alimentan primariamente de pastura también se alimentan de hojas y arbustos (Larter y Gates 1991; Reynolds *et al.* 2003). Se ha reportado que son más eficientes que otros ungulados en el procesamiento de dietas con alto contenido de fibra y bajo de proteínas. Lo anterior se debe a una mayor eficiencia en su ciclo de nitrógeno dentro de su sistema digestivo (Peden *et al.* 1974; Hawley *et al.* 1981; Hawley 1987; Reynolds *et al.* 2003).

Existe evidencia que indica que los bisontes ayudan a mantener las praderas junto con los perritos de las praderas, ya que evitan el sobrepastoreo, son vectores efectivos para la dispersión de semillas, desempeñan un papel importante en el ciclo de nutrientes, e incluso se les asocia con la formación de cuerpos de agua temporales (Larson 1940; Reynolds *et al.* 2003; COSEWIC 2004).

La distribución original de *B. bison* comprendía desde Alaska, el noroeste y centro de Canadá a través de los Estados Unidos de América, hasta Chihuahua y Coahuila en México (Sánchez *et al.* 1998; Wilson y Sue 1999; Pacheco 2005). Basándose en los registros de los nativos americanos y estimaciones de la capacidad de carga de las praderas, se ha calculado que el tamaño poblacional original del bison de la pradera era de entre 30 y 60 millones de individuos (McHugh 1982). En la actualidad, su tamaño censal estimado es de entre 600,000 y 700,000 bisontes (Reynolds *et al.* 2003). Sin embargo, de los 42 rebaños de conservación en E.U.A., menos de 10 son silvestres y libres. De hecho el 95% del total de las poblaciones de bisontes son mantenidas para fines comerciales, tanto para producción de cárnicos y pieles, como aprovechamiento

cinegético (Boyd 2003).

Problemática

Cacería y la reducción de las poblaciones del bison

Hacia finales del siglo XIX, el bison sufrió de una dramática reducción en su tamaño poblacional, pasando rápidamente de varios millones a menos de 1,000 individuos (Ward *et al.* 2001). El registro de la cacería del bison americano es muy antiguo, de hecho el bison era el medio de subsistencia para las tribus nativas de Norteamérica (McHugh 1972). Sin embargo, la llegada de los colonizadores europeos tuvo un impacto decisivo en el bison por la introducción de caballos que facilitaban la persecución de los rebaños, el uso de armas de fuego, y la expansión de las redes ferroviarias (McHugh, 1972). Ésta última propició la proliferación de excursiones para cacería de bisontes a bajo precio, donde los trenes bajaban su velocidad al encontrarse cerca de algún rebaño, descendían las ventanillas de los vagones, y los pasajeros disparaban sobre los densos grupos, después el tren aumentaba la velocidad y la escena se repetía unos cuantos kilómetros más adelante. Rara vez se detenían para cargar los cadáveres, y la mayoría se dejaban pudrir en las vías (McHugh 1972). Se tiene registro de que tan sólo en tres años (en los años 1872 a 1874) se mataron alrededor de 4 millones de bisontes (McHugh 1972).

Las últimas expediciones de cacería fueron dirigidas por museos de historia natural de E.U.A., y dieron cuenta de manera oficial que el bison de la pradera estaba en peligro extinción. Así, en 1894 se dictó en E.U.A. la primera ley que protegía a la especie

(McHugh 1972). El reducido número de individuos en las poblaciones silvestres obligó a la compra de individuos provenientes de rebaños privados (McHugh 1972), dando como resultado la fundación de numerosas poblaciones a partir un número muy pequeño de individuos (McHugh 1972; Ward *et al.* 2001; Halbert *et al.* 2004).

Introgresión de genoma de ganado en las poblaciones de bisonte

Los primeros esfuerzos para recuperar las poblaciones de bisonte fueron llevados a cabo por personas que tenían el interés de mejorar las características del ganado vacuno a través de la hibridación con bisontes (Ward *et al.* 2001). Muchas de las poblaciones en cautiverio expuestas a la hibridación con ganado fueron usadas posteriormente para fundar la mayoría de las poblaciones actuales de bisontes (Rorabacher 1970; Ward *et al.* 2001). A excepción de la población del Parque Nacional de Yellowstone, la mayoría de poblaciones actuales de bisontes fueron fundadas exclusivamente por animales que fueron vendidos o donados por ranchos privados (Lott 1981).

El primer trabajo en reportar evidencia molecular de introgresión fue el de Polziehn *et al.* (1995), en donde encontraron haplotipos de la región control mitocondrial de ganado en una población de bisontes de Dakota del Sur, E.U.A. En 1999 Ward *et al.*, detectaron haplotipos mitocondriales en seis de 15 poblaciones examinadas, demostrando que los eventos históricos de hibridación resultaron en la introgresión de genomas mitocondriales heredados maternalmente. Un análisis posterior del cromosoma Y reveló que ninguno de los individuos presentaron alelos de ganado en ese cromosoma, lo que indicó que los machos vacunos no han contribuido de manera significativa a la composición de las poblaciones de bisonte con ancestría híbrida (Ward *et al.* 2001). Ésto

sugiere que la baja viabilidad de los machos híbridos es resultado de una barrera reproductiva entre ambas especies (Gray 1954; Boyd 1914), aunque la adecuación de los híbridos es restaurada en ambos sexos por medio de retrocruzas (Boyd 1914).

Población de estudio

El bisonte de la pradera en México

En México se tiene el registro de una población silvestre de bisonte de alrededor de 130 individuos distribuida en la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes, Chihuahua (Ceballos y Oliva 2005) (Fig. 2.2). Aunque se desconoce el origen de la población, se ha propuesto que puede ser introducida o provenir de individuos relicto de la distribución original de la especie, o incluso una combinación ambas fuentes. Según Sims y Risser (2000), en norte de México se encuentra pradera de pastos cortos (shortgrass prairie) y pradera de pastos desérticos (dessert grassland), compuestos principalmente por los géneros *Bouteloua*, *Hilaria* y *Aristida*. La pradera de pastos cortos es considerada como un componente de la vegetación del sobreforrajeo del bisonte (Clements 1920; Carpenter 1940). Esto indica que México no sólo cuenta con comunidades de plantas capaces de sustentar a los bisontes, sino también que existieron de manera natural en la región. Asimismo, se tiene evidencia de que la población tiene más de 90 años de antigüedad (R. List UAM-Lerma Com. personal).

Sitio de estudio

El sitio de estudio se localiza dentro de la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas

Grandes, Chihuahua, México (Fig. 2.2). Tiene una extensión de 526,482.5 hectáreas, y los tipos de vegetación presentes son bosque de coníferas, bosque de encino, matorral xerófilo, mezquital, pastizal, así como vegetación introducida (Brown 1994). El clima es templado húmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 11.8 °C, aunque puede oscilar en más de 14 °C. La precipitación anual es 552 mm (García 1981).

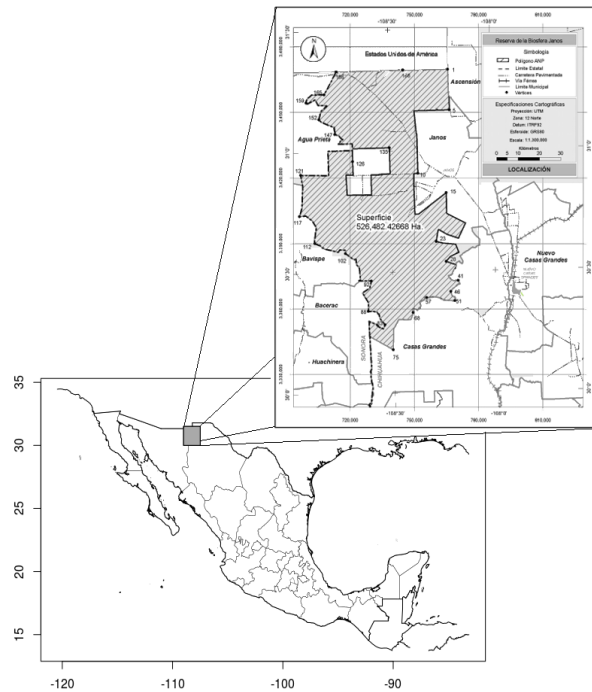


Figura 2.2. Localización geográfica de la reserva de la biósfera de Janos-Casas Grandes, en Chihuahua, México. Imagen tomada del Diario Oficial de la Nación (8 de diciembre 2009).

Justificación y relevancia del proyecto

A pesar de que se desconoce el origen de la población del bisonte de Janos en México, la población presenta características que pueden poner en riesgo su permanencia:

- La población es relativamente pequeña.
- Se encuentra aislada de otras poblaciones de la especie.
- Corre el riesgo de sufrir introgresión de genes de ganado.

La conservación de esta especie en México tiene tres componentes: primero, los servicios ecosistémicos que representa, ya que como se mencionó previamente, es una especie de importancia para el mantenimiento del ecosistema de la pradera. Segundo resulta un atractivo tanto para el ecoturismo como para el desarrollo de actividades cinegéticas. Finalmente, la población puede poseer variación genética única que ayude a atenuar los efectos de la deriva génica y depresión por endogamia en otras poblaciones de bisontes. No obstante, para elaborar estrategias de conservación para esta población es necesario determinar su integridad genética (i.e. si presenta individuos híbridos).

Objetivos

Objetivos generales

Determinar la presencia de individuos de bisonte híbridos en la población de Janos, Chihuahua, Mexico.

Objetivos particulares

Usar un marcador mitocondrial como primer diagnóstico en la detección de individuos híbridos.

Método

Muestreo y técnicas moleculares

El muestreo se llevó acabo en el rancho “El Encino”, localizado al norte de la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes en la frontera de México con E.U.A. La colecta de la muestra se hizo arrancando pelo directamente del animal. La muestra fue tomada de una hembra juvenil que perdió su rebaño original y se integró a uno de ganado vacuno (Fig. 2.3).



Figura 2.3. Individuo de bisonte muestreado en la Reserva de Janos-Casas Grandes, Chihuahua, México. Fotografía: Eduardo Ponce.

La muestra se almacenó en sobres de papel y se mantuvo en congelación hasta su uso. La extracción de ADN se llevó a cabo usando un protocolo estándar de resina Chelex (Walsh *et al.* 1991, Apéndice P.1). Se eligió a la region control mitocondrial como marcador molecular debido a que se ha usado previamente para la detección de linajes

maternos de ganado en los bisontes (Ward 1999). La distancia genética reportada para este marcador entre el ganado y bisonte es suficiente para distinguirlas usando métodos de reconstrucción filogenética.

Se usaron las secuencias de los marcadores reportados por Boyce *et al.* (1999), los detalles de las secuencias y las condiciones de amplificación se describen en el Apéndice P.2.

Análisis de los datos

La evaluación de la calidad y el ensamble de las secuencias se llevó a cabo usando el software Consed v 1.9 (Ewing y Green 1998; Gordon *et al.* 1998). La secuencia obtenida fue comparada con la base de datos no redundante del Genbank (NCBI), usando el algoritmo *blastn*. Para conocer la similitud de la secuencia obtenida con bisonte y con otras especies, se descargaron secuencias de la región control mitocondrial de bisontes “puros” e híbridos. También se incluyeron secuencias de distintas razas de ganado (*Bos taurus*), yak (*Bos grunniens*), bisonte europeo (*Bison bonasus*) y zebú (*Bos indicus*). Como grupos externos se usaron al búfalo africano (*Syncerus caffer*), el búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) y el borrego cimarrón de montaña (*Ovis canadensis canadensis*). Los números de acceso del GenBank y los detalles de las secuencias utilizadas se presentan en el Apéndice S.1. Con el fin de tener un individuo de bisonte puro como control, analizó una muestra procedente del zoológico de Chapultepec. A pesar de que no se cuenta con el registro preciso de los individuos del zoológico, estos bisontes provienen de rebaños de Nuevo México, Arizona o del Parque Nacional de Yellowstone, E.U.A.

La alineación de las secuencias se llevó a cabo con el software ClustalW v 2 (Larkin *et al.* 2007) en UGENE v 1.9.8 (Okonechnikov *et al.* 2012). Para conocer las relaciones evolutivas del individuo muestreado con el bisonte y con el ganado, así como las demás especies incluidas, se llevó a cabo una reconstrucción filogenética usando el algoritmo de máxima verosimilitud con el software PhyML v 2.01 (Guindon *et al.* 2010), usando el modelo de sustitución *HKY* (Hasegawa *et al.* 1985) previamente obtenido con el software jModelTest v 2.0 (Darriba *et al.* 2012). El sustento estadístico de las ramas se evaluó usando 100 réplicas de bootstrap no paramétrico. La visualización del dendrograma se hizo con Archaeopteryx v 0.972 (Ham y Zmasek 2009). Con la información generada con el dendrograma se agruparon las secuencias mitocondriales y se obtuvieron estimados de diversidad y divergencia genética. Se estimaron el número de sitios segregantes, número de haplotipos, y número promedio de diferencias genéticas (Tajima 1983; Nei 1987). Los estimados fueron calculados con el software DnaSP v.5 (Librado y Rozas 2009). Adicionalmente, se elaboraron matrices de distancia entre los grupos usando la distancia genética promedio de Nei (Nei 1987), y el número de diferencias genéticas promedio. Las matrices de distancia se representaron gráficamente por medio de dendogramas de Neighbour-Joining con el software MEGA v 5 (Tamura *et al.* 2011).

Resultados

Identidad de la secuencia obtenida

Se obtuvieron 646 pares de bases a partir de la muestra de una hembra de bisonte de la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes. La búsqueda en la base de datos del Genbank mostró la mayor identidad (99%, 635/637 sitios idénticos/sitios totales, 2

gaps) con una secuencia de *Bos taurus* (Número de acceso: FJ815737). La secuencia corresponde a la raza “Criollo Baja California”, procedente de México (Ginja *et al.* 2010).

La alineación con las demás secuencias mostró varios bloques de inserciones-delecciones entre las secuencias de bisonte, y las de ganado e híbridos. También se observaron numerosos sitios segregantes (Fig. 2.4). No obstante la divergencia observada entre las secuencias, la alineación fue inequívoca, debido a que el fragmeto analizado incluye una de las regiones conservada de la región control mitocondrial.

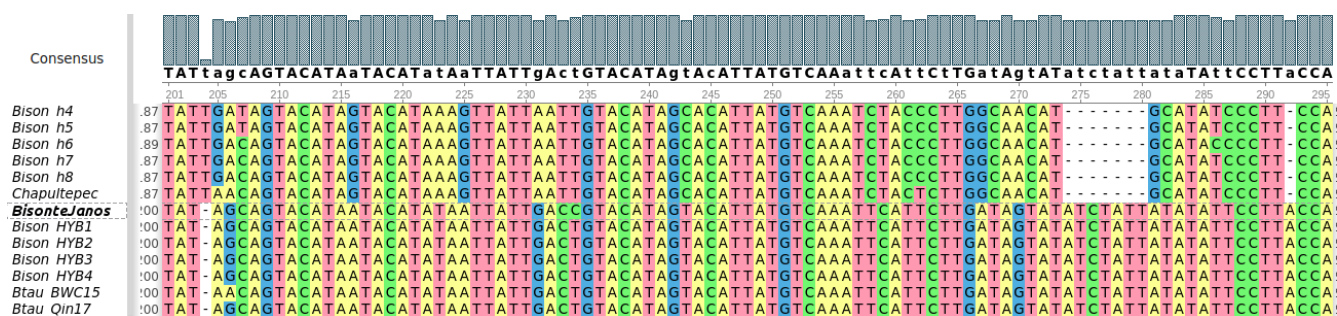


Figura 2.4. Representación visual de un fragmento de la alineación de las secuencias analizadas. Las secuencias con la etiqueta “*Bison h*” corresponden a individuos de bisonte genéticamente puros, “*Bison HYB**” corresponde a individuos híbridos de bisonte, “*Btau*” corresponde a distintas razas de ganado vacuno (*Bos taurus*). En negritas se resalta al individuo colectado en Janos (“BisonteJanos”).

El filograma de máxima verosimilitud de las secuencias muestra dos grupos principales con alto soporte de bootstrap (Fig. 2.5). El primero incluye las secuencias de bisontes puros, así como la secuencia obtenida del Zoológico de Chapultepec, y como grupo hermano tiene al yak (*Bos grunniens*). En el segundo grupo se incluyen las secuencias de ganado vacuno (*Bos taurus*), zebú (*Bos indicus*) así como los individuos de bisonte híbridos.

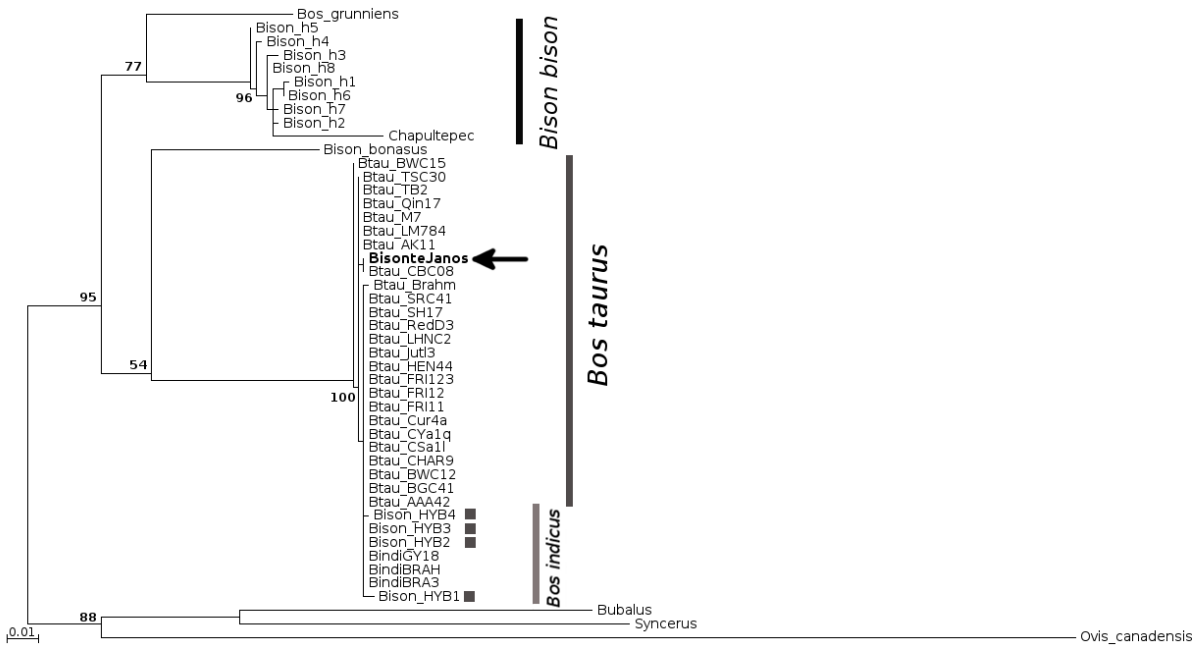


Figura 2.5. Filograma generado con el algoritmo de Máxima Verosimilitud. En los nodos se muestran los valores en porcentaje de bootstrap mayores al 50%. En la figura se señalan las agrupaciones de las especies *Bison bison*, *Bos taurus* y *Bos indicus*. Con un cuadro gris, se señalan individuos de bisonte híbrido (*Bison_HYB*). La flecha indica la posición en el dendograma del individuo proveniente de Janos.

La secuencia del bisonte de Janos se agrupó con las secuencias de ganado vacuno. Aunque con un soporte bajo, la secuencia del bisonte europeo (*Bison bonasus*) se localizó como grupo hermano de *Bos taurus*.

Variación genética de las secuencias analizadas

Basado en similitud de las secuencias observada en el Filograma, se agruparon las secuencias de la siguiente manera: “*Bison*” que contiene sólo individuos puros, “*B_indicus*”, que contiene sólo individuos de cebú, “*B_tau*”, que contiene individuos de ganado vacuno, “*B_tau_Janos*” que contiene a la muestra de Janos y secuencias de ganado vacuno más parecidas, y el grupo “*HYB*”, que incluye individuos híbridos de bisonte. Con éstas agrupaciones se obtuvieron los estimados de variación genética (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Estimados de variación genética de los grupos predefinidos con base al dendograma de máxima verosimilitud. *N* es el número de secuencias de cada grupo, *S* es el número de sitios segregantes, *h* número de haplotipos y *K* número promedio de diferencias pareadas. Todos los estimados se obtuvieron excluyendo los sitios con indels.

Grupo	N	S	h	K
Bison	9	29	9	7.444
B_tau	25	3	5	0.686
B_tau_Janos	8	2	3	0.678
B_indicus	3	0	1	0
HYB	4	3	3	1.5
Todos	49	82	16	18.236

Los estimados de distancia genética entre los grupos dieron topologías idénticas con la distancia de Nei y con el número de diferencias promedio. En la Figura 2.6 se muestra el dendograma de la distancia genética de Nei, y se aprecia la distancia genética entre las secuencias de bison con los híbridos y ganado.

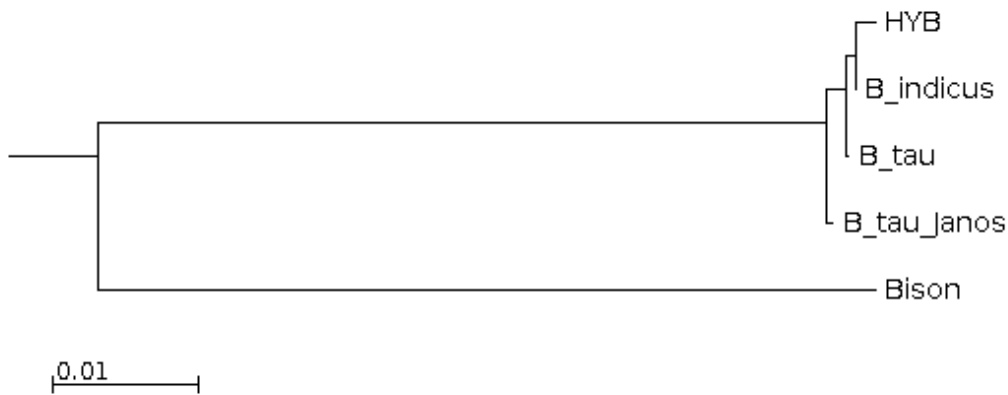


Figura 2.6. Dendrograma de NJ usando la distancia genética de Nei entre los grupos previamente definidos.

Discusión

La secuencia obtenida de la muestra de Janos mostró mayor similitud con las secuencias de ganado vacuno. Asimismo, la distancia genética de la muestra de Janos

con las secuencias de bisontes puros confirman que el haplotipo encontrado pertenece a *Bos taurus*. Considerando que la tasa de recombinación de las mitocondrias en mamíferos es muy baja (Piganeau y Eyre-Walker 2004; Elson y Lightowlers 2006), es posible afirmar que el genoma mitocondrial de la muestra analizada pertenece a *Bos taurus*, y por lo tanto el individuo muestreado corresponde a un bisonte híbrido. Este resultado indica que existen híbridos en la población de bisontes de la reserva de la biósfera de Janos Chihuahua.

A pesar de que el objetivo del presente estudio no fue hacer una búsqueda exhaustiva de haplotipos de ganado vacuno, las secuencias analizadas mostraron que los bisontes poseen mucha más variación genética que el ganado (p.ej. $S=29$ vs $S=3$, Tabla 2.1), aún cuando se incluyeron secuencias de razas de ganado provenientes de distintos continentes (Apéndice S.1). Otro resultado interesante fue que los híbridos de bisonte previamente reportados mostraron un haplotipo muy distinto del encontrado en el presente estudio (Fig. 2.5). Esto no sólo apoya lo reportado acerca de que existieron múltiples eventos de introgresión (Ward 1999), sino que además fueron con distintas razas de ganado.

Es importante mencionar que los marcadores mitocondriales pueden ser usados sólo como aproximación inicial para la detección de híbridos. Halbert (2003), encontró señales de introgresión con marcadores mitocondriales en una población de diez analizadas, mientras que al usar microsatélites nucleares encontró que en siete de los diez rebaños analizados existían alelos de ganado. Esto implica que los haplotipos mitocondriales no son determinantes para encontrar evidencias de una población con introgresión, debido a que éstos pueden perderse en la descendencia de la cruce de una

hembra con haplotipo de bisonte y un macho híbrido.

La introgresión como amenaza para la especie

La cruce de distintas especies (filogenéticamente cercanas) ha sido una opción para recuperar especies de la extinción (Hedrick 1995; Hedrick *et al.* 2010). Sin embargo, también se ha demostrado que la mezcla entre especies puede conllevar a la extinción, en particular cuando es producto de actividades humanas (Rhymer y Simberloff 1996). Esto se atribuye a que la combinación de alelos de poblaciones o especies adaptadas a diferentes ambientes, dan como resultado una población híbrida con adaptaciones intermedias que no se encuentran adaptadas a ningún ambiente (Frankham *et al.* 2002).

En el caso del bisonte, se ha propuesto que la introgresión de material genético de ganado tiene poco efecto sobre su adecuación (COSEWIC 2004). No obstante, el bisonte presenta adaptaciones para sobrevivir en su hábitat (las cuales no tiene, o no de la misma manera el ganado) que van desde conductuales hasta fisiológicas (Peden *et al.* 1974; Guthrie 1980; Hawley *et al.* 1981; Hawley 1987; Pauls 1995; Rutley y Hudson 2000; Lott 2002; Reynolds *et al.* 2003). Por ejemplo, su sistema digestivo está adaptado para digerir la pequeña vegetación de la pradera, mientras que el ganado necesita de pastos más largos con mayor contenido de agua (COSEWIC, 2004). Además los bisontes presentan variaciones en sus tasas metabólicas como respuesta a las bajas temperaturas (Rutley y Hudson 2000; Reynolds *et al.* 2003) y presentan diez veces más folículos por cm² que el ganado (Lott 2002). De hecho, los híbridos entre ganado y bisonte presentan un intermedio en la densidad de pelo (Smoliak y Peters 1995). También hay que considerar que existe una barrera reproductiva natural entre ambas especies que se

refleja en la baja fertilidad y viabilidad en los machos híbridos (Boyd 1914; Gray 1954; Ward *et al.* 2001), y que la cruce de machos vacunos con bisontes hembras es casi imposible (Boyd 1914; Dary 1989). Además, se tiene registro de que los bisontes se cruzan únicamente con su propia especie en ausencia de influencia humana (Boyd 1914; Goodnight 1914).

En cualquier caso se ha establecido que no deben reintroducirse animales procedentes de poblaciones con individuos híbridos, o en las que su estatus en lo que a individuos híbridos se refiere, sea desconocido o dudoso (COSEWIC, 2004).

Conclusiones

- a) La población de bisonte de la Reserva de la Biósfera de Janos-Casas Grandes presenta individuos híbridos
- b) Los resultados sugieren un evento de hibridación independiente en la población de la Reserva de Janos-Casas Grandes a los previamente reportados.
- c) Es necesario realizar un análisis diagnóstico de todos los individuos de la población de la Reserva de Janos, hasta entonces no debe ser considerada para programas de reintroducción.

Perspectivas

Es necesario llevar a cabo un análisis usando marcadores nucleares con el mayor

número de muestras posibles. Para ello se tienen reportados varios juegos de microsatélites diagnósticos que permiten la detección de alelos provenientes de ganado (Halbert 2003). Por otra parte, se han desarrollado chips que permiten la genotipificación de miles de SNP's y que dan la resolución necesaria para distinguir las especies (Pertoldi *et al.* 2010), por lo que ésta técnica puede ser aplicada para la detección de híbridos.

Capítulo 3 Genética de poblaciones, manejo y conservación del borrego cimarrón en México.

El borrego cimarrón, descripción y biología básica

El borrego cimarrón o borrego de montaña (*Ovis canadensis*, Shaw 1804), es un artiodáctilo perteneciente a la familia *Bovidae*, subfamilia *Caprinae*. Este grupo incluye entre otras especies a las cabras (*Capra hircus*), ovejas domésticas (*Ovis aries*), e ibex (*Capra ibex*). Sus características anatómicas, así como su historia de vida, reflejan su adaptación a los ambientes de montaña (Valdez y Krausman 1999). Su tamaño y apariencia general varían dependiendo del hábitat donde se le encuentre, y las mayores diferencias morfológica y ecológicamente hablando se encuentran entre los borregos que habitan las zonas montañosas y las zonas desérticas (Valdez y Krausman 1999). De hecho, se reconoce la división de la especie en estos dos ecotipos (Festa-Bianchet 1999). Su coloración varía de pardo oscuro en el dorso a pardo claro en el vientre, mientras que la parte posterior es blanquecina. La especie presenta un fuerte dimorfismo sexual que resalta con la presencia de unos cuernos masivos y recurvados hacia atrás en espiral, con las puntas orientadas hacia adelante (Fig. 3.1).

Las cornamentas de un borrego cimarrón macho pueden pesar más del 25% de su masa corporal. En el caso de las hembras, los cuernos son más delgados y cortos, y están orientados hacia arriba y hacia atrás (Nowak 1991; Valdez y Krausman 1999). Es una especie muy ágil y tiene una excelente visión, su musculatura de los hombros, así como

pezuñas les permiten aferrarse al terreno y tener mayor facilidad para desplazarse en terrenos escarpados (Krasuman *et al.* 1999).

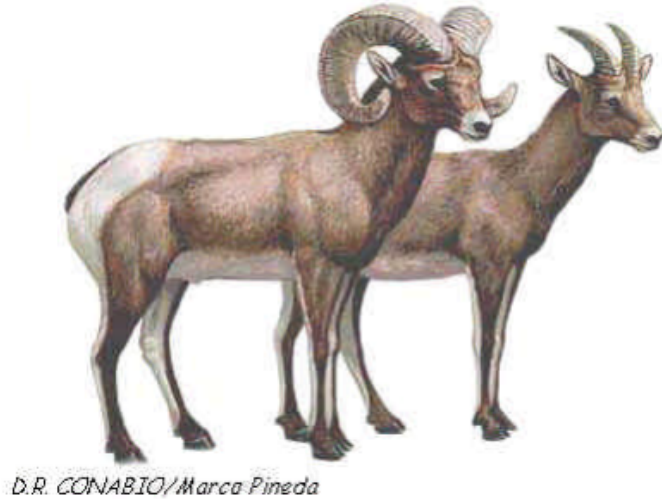


Figura 3.1. Esquema del borrego cimarrón. A la izquierda un ejemplar macho, a la derecha la hembra. Imagen tomada del banco de imágenes de la Conabio (www.conabio.gob; Marco Pineda 1998).

Aunque en la actualidad se reconocen 6 subespecies de borrego cimarrón (ITIS 2014), esta clasificación es subjetiva, ya que se basa en características que se encuentran influenciadas por el ambiente (Valdez y Krausman 1999), por lo que su validez taxonómica es cuestionada (Wehausen y Ramey 2000). De hecho se propone que la distribución original del borrego cimarrón representaba un continuo en las características fenotípicas que dividen a las subespecies (Valdez y Krausman 1999).

Los borregos cimarrón forman grupos de hembras o machos en los que existe una jerarquía de dominancia basada en la edad y tamaño de los cuernos. Los machos muestran comportamientos ritualistas de dominancia como el combate directo con sus cuernos (Geist 1971; Valdez y Krausman 1999). Aunque los machos dominantes no son territoriales, ahuyentan a otros machos cuando están cortejando a una hembra en estro (Geist 1971). El borrego cimarrón tiene una temporada reproductiva muy extendida,

desde julio hasta diciembre, y las hembras son estacionalmente poliéstricas. El período de gestación es de 174 días aproximadamente, y dan a luz a una sola cría y a ocasionalmente dos. Las hembras alcanzan la etapa reproductiva a los dos años de edad mientras que los machos hasta los siete (Nowak 1991; Valdez y Krausman 1999). Su longevidad depende en gran medida del ambiente. Los machos pueden vivir hasta 20 años, mientras que las hembras 24 años, con un promedio de diez años en condiciones silvestres (Nowak 1991; Valdez y Krausman 1999). Presentan un comportamiento social en el que existen grupos de hembras relacionadas entre sí. Estos grupos pueden incluir machos de hasta cuatro años de edad (Geist 1971). La dominancia de los machos, así como su éxito reproductivo se determina por el tamaño de sus cuernos, ya que no sólo funcionan como armas y escudos, sino también como un símbolo de su jerarquía. En los grupos de machos existen combates menores en donde se permite juzgar el potencial de combate del tamaño de los cuernos de los oponentes, y en general son evitados los combates sin esperanza de victoria (Geist 1971). Los combates raramente culminan con la lesión de alguno de los contendientes, por lo que pueden resultar largos y tediosos. De hecho se han reportado combates que han durado más de 24 horas. En general, los machos jóvenes son tolerados por los adultos y estos últimos parecen mostrar un comportamiento de enseñanza, heredando en ocasiones su ámbito hogareño y patrón migratorio. (Nowak 1991).

Los rangos hogareños de distribución del borrego cimarrón son muy variables dependiendo de la población y el sexo. En general, los machos presentan más y mayores movimientos estacionales, mientras que las hembras presentan rangos hogareños más reducidos y sus movimientos son en grupo (Geist 1971). Aunque existe mucha variación en estos rangos, se ha observado que los borregos presentan lealtad hacia sus rangos

hogareños, a los cuales regresan año con año (Geist 1971). En los movimientos estacionales se dispersan hacia regiones más altas y amplias durante el verano, y se concentran en valles protegidos durante el invierno (Geist 1971; Nowak, 1991). Se ha reportado que un borrego cimarrón puede desplazarse más de 100 km (Gildart 1999), aunque la mayoría no muestran movimientos de más de 15 km de su lugar de nacimiento (Geist 1971; Gildart 1999).

Distribución geográfica

La distribución original del borrego cimarrón se extendía desde el centro de Canadá hasta el noreste de México (Fig.3.2), incluyendo originalmente casi toda la Península de Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila y parte de Nuevo León (Álvarez-Romero y Medellín 2005). Habita en poblaciones naturalmente fragmentadas en pendientes de cadenas montañosas de suelo rocoso, y en ambientes de clima árido (Hall 1981; Nowak 1991). Es interesante que su distribución incluye climas extremos, desde el clima frío de las montañas canadienses hasta los desiertos secos del norte de México (Valdez y Krausman 1999).

En México, se distribuyen tres de las seis subespecies, *O. c. mexicana* en Sonora, Chihuahua y Coahuila, *O. c. cremnobates*, en Baja California y *O. c. weemsi* en Baja California Sur. Las tres subespecies corresponden al ecotipo del borrego cimarrón del desierto (Valdez y Krausman 1999).

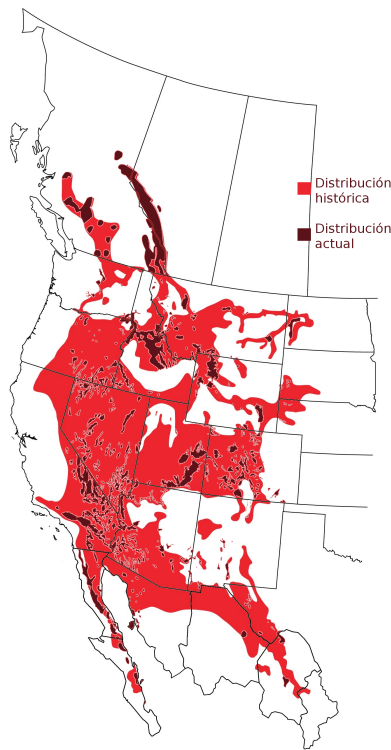


Figura 3.2. Distribución geográfica del borrego cimarrón (*O. canadensis*). Imagen modificada de Wild Sheep Foundation.

Ecología del borrego cimarrón del desierto

Los borregos cimarrones del desierto se encuentran adaptados a la dispersa vegetación y condiciones áridas del desierto. Presentan adaptaciones metabólicas que les permiten mantener sus requerimientos de agua, así como digerir el forraje seco y abrasivo del desierto, e incluso vegetación suculenta (Krausman y Etchberger 1996; Krausman *et al.* 1999). Se alimentan básicamente por ramoneo de arbustos, aunque pueden comer algunos pastos y hierbas (Nowak 1991; Valdez y Krausman 1999). Los tipos de vegetación que puede habitar incluyen matorrales de tipo xerófilo, tipo subinerme, matorral desértico micrófilo, así como pastizales (Nowak 1991; Álvarez-Romero y Medellín 2005). Pueden ser activos durante la noche o en el día, y

descansar durante las horas más calurosas del día. A pesar de sus adaptaciones que minimizan sus requerimientos de agua, son dependientes de los cuerpos de agua para sobrevivir (Turner 1979), y pueden llegar a consumir hasta un 5% de su volumen en agua, aunque también pueden obtener el agua de la humedad del alimento (Krausman *et al.* 1995).

Tienen modificaciones conductuales en sus temporadas de apareamiento y crianza para enfrentar la disponibilidad de forraje (Thompson y Turner 1982). Se ha reportado que su hábitat debe tener al menos cuatro componentes esenciales: comida, cuerpos de agua, terreno de escape, y espacio abierto con buena visibilidad. Se ha observado que áreas con disponibilidad de alimento, pero sin visibilidad y/o terreno de escape, no suelen ser utilizadas por los borregos (Krasuman *et al.* 1999). En general, aunque se encuentren en su hábitat, tienden a ser intolerantes a la presencia humana (Krasuman *et al.* 1999).

Los borregos cimarrón son presas importantes de depredadores grandes como coyotes (*Canis latrans*), osos (*Ursus americanus*) y lobos (*Canis lupus*), incluso se ha reportado que las crías pueden ser presa de águilas reales (*Aquila chrysaetos*). Asimismo, son importantes consumidores de vegetación en los hábitats donde se distribuyen (Festa-Bianchet 1999). Pueden llegar a ser fuertes competidores con el venado bura (*Odocoileus hemionus*) en áreas donde han sido introducidos de manera artificial (Álvarez-Romero y Medellín 2005).

Evolución

El registro fósil indica que el género *Ovis* se originó hace 2 millones de años

durante el Pleistoceno temprano en el continente asiático. Al igual que varios géneros de mamíferos (p. ej. *Cervus*, *Bison*; *Panthera*; Geist 1971; Guthrie 1989; Kurten y Anderson 1980), la colonización de los borregos silvestres en América se dio a través del puente de Bering durante el Pleistocénico (Guthrie 1966; Hopkins *et al.* 1982). De hecho, los fósiles sugieren que las características que definen a los borregos silvestres americanos surgieron en la región de Bering y no necesariamente en el continente (Cowan 1940). Después de la colonización del continente, las poblaciones de borregos se aislaron, dando origen a la especie de borrego que habitó en Alaska (*Ovis dalli*) y la especie migró hacia el sur de Norteamérica (*Ovis canadensis*) (Cowan 1940). Se ha propuesto que el género *Ovis* habita en norteamérica desde hace 350,000-110,000 años. Los fósiles de *Ovis canadensis* durante el Pleistoceno tardío son muy abundantes, y en general presentaban tamaños corporales mayores a los actuales, presumiblemente por las condiciones favorables que se presentaron después del último máximo glacial mientras se dispersaban por Norte América (Geist 1985).

Problemática y amenazas

Después de los eventos de glaciaciones pleistocénicas, los borregos cimarrones tuvieron incrementos poblacionales sustanciales debido a un clima apto para la vegetación que consumen, y a la falta de competencia por parte de un equivalente ecológico (Geist 1971). Se estima que en Norteamérica habitaban de 500,000 a 4,000,000 borregos al inicio del siglo XIX (Buechner 1960; Valdez 1988). Sin embargo, en la actualidad, se estima que número el total de borregos en toda su distribución es de alrededor de 63,000 individuos (Festa-Bianchet 2008).

El borrego cimarrón y el ser humano han coexistido durante miles de años. Esta especie representó una importante fuente de alimento para los primeros asentamientos humanos, y a diferencia de Europa, en América el borrego nunca fue domesticado, por lo que su aprovechamiento fue basado exclusivamente en la cacería (Valdez y Krausman 1999). Además de alimento, se aprovechaban todas las partes del cuerpo del borrego para distintos fines, desde vestido, hasta utensilios religiosos (Valdez y Krausman 1999).

A inicios del siglo XIX, las poblaciones del borrego cimarrón fueron fuertemente diezmadas (Buechner 1960; Valdez y Krausman 1999; Hedrick 2014), y de ser una especie relativamente abundante pasó a ser una especie rara (Valdez y Krausman 1999). Sus principales amenazas fueron el sobrepastoreo por parte del ganado, la pérdida del hábitat, la extirpación de fuentes de agua, la construcción de barreras al tránsito (bardas, carreteras), la cacería, y la introducción de enfermedades y competencia por parte de borregos domésticos (*O. aries*) (Buechner 1960; Valdez y Krausman 1999).

A nivel global, el borrego cimarrón es clasificado por la Union Internacional para la Conservación de la Naturaleza como “Least concern” (Lc, IUCN ver 3.1) debido a su amplia distribución y tamaño poblacional grande (Festa-Bianchet 2008). En México, se clasifica como “Bajo Protección Especial” (NOM-059-SEMARNAT-2010), mientras que en el año 2000 la población de Baja California Sur fue designada en la categoría IUCN Red List 2000 “Critically Endangered” (CR-C2a), y en el norte de México como “Vulnerable” (VU-D1). Asimismo, se ha reconocido que el manejo del borrego cimarrón debe estar basado en estrategias locales, ya que a lo largo de su distribución no se enfrenta a las mismas amenazas (Bannor 2003).

El borrego cimarrón en México

El registro fósil sugiere que el borrego cimarrón ha existido en México por más de 10,000 años, y que sus poblaciones fueron muy numerosas. Sin embargo, al igual que en el resto del continente, los asentamientos humanos impactaron a sus poblaciones, tanto por la cacería como por la introducción de ganado (Lee 2009). Sheldon (1925) sugiere que en el año de 1860 habían registros de borregos cimarrones en las montañas de Chihuahua. No obstante, a finales del siglo XIX los borregos empezaron a ser escasos, y para 1925 ya no se tenía evidencia de su presencia en el Estado, y aunque se ha sugerido la existencia de individuos en áreas aledañas, actualmente se considera extinto en Chihuahua (Anderson 1972). En Coahuila, los registros indican que en 1950 los borregos cimarrón eran raros (Baker 1956), y para el año de 1959 se consideraron oficialmente extintos tanto en Coahuila como en Chihuahua (Villa 1959). En el mismo año, en el Estado de Sonora se observaron alrededor de 200 individuos en la parte costera central, lo cual sugería cierta abundancia de la especie, aunque no se tenía un registro preciso del tamaño censal para todo el Estado (Villa 1959). En el caso de Baja California Norte, las poblaciones de borrego disminuyeron de tal manera que en 1917 se decretó una veda, la cual se extendió a todo el país en 1922 (Jaramillo-Monroy y Castellanos-Vera 1992). A pesar de la información acerca de los tamaños poblacionales, en 1964 se autorizaron cacerías de prueba, y en 1969 se autorizó la primer temporada de cacería en México (Lee 2009). Sin embargo, en 1990 la cacería fue vetada en Baja California Norte. En 1992, una vez más, la cacería fue prohibida en todo México debido principalmente a la falta de información de las poblaciones de borrego cimarrón (Lee 2009).

La incertidumbre acerca del estado de las poblaciones propició que se llevaran a cabo múltiples censos a lo largo de todo el país. Lee y Mellink en 1996, estimaron entre 1,488 y 2,977 individuos en algunas regiones montañosas del oeste de Sonora, lo cual sugería un incremento en las poblaciones o al menos una tendencia estable. En el caso de Baja California Sur, se estimaron entre 500 y 700 animales en 1992 (Jaramillo-Monroy y Castellanos-Vera 1992), mientras que para Baja California Norte se estimaron entre 780 y 1,170 individuos. Para el año 2000 se aproximó un tamaño de 2,100 individuos para toda la península (INE 2000). Después de varios monitoreos aéreos, los estimados censales de las poblaciones indicaron una estabilidad, e incluso una recuperación limitada de las poblaciones, por lo que en 1994 se volvieron a autorizar permisos de cacería regulada (Lee 2009). No obstante, en el Estado de Baja California Norte, la veda a la cacería permanece a pesar de que se ha sugerido que sus tamaños poblacionales son estables (Lee 2009).

Los esfuerzos de recuperación de las poblaciones de borrego cimarrón han incluido eventos de introducción en dos islas del Golfo de California. El primer evento fue en 1979 en Isla Tiburón, cerca de la Bahía Kino en Sonora, donde se introdujeron 16 individuos (Montoya y Gates 1979). No obstante en el 2014 se encontraron restos óseos de borrego cimarrón dentro de la isla cuya antigüedad indica que el borrego habitó la isla de manera natural, por lo que se consideró un evento de “reintroducción accidental” (Wilder *et al.* 2014). El segundo evento fue en Isla del Carmen (Jimenez *et al.* 1997) en los años de 1995 y 1996, en donde se introdujeron 12 y 14 individuos porcedentes de la región del montañosa del Mechudo en Baja California Sur (DeForge *et al.* 1996; Jimenez *et al.* 1997). En ambos casos los tamaños poblacionales tuvieron incrementos considerables, pasando de menos de 30 individuos fundadores a varios cientos en la actualidad (Colchero y

Medellín 2009, Lee y Segundo-Galan 2011). Estas poblaciones son aprovechadas con fines cinegéticos, pero también se usan para reintroducción (Lee y Segundo-Galan 2011).

La mayor parte de estimados poblacionales del borrego cimarrón preceden al año 2000, y se estima un total de alrededor de 4,500 individuos para todo México (Festa-Bianchet 2008). En general se afirma que ha habido una recuperación o estabilidad de las poblaciones existentes (Medellín *et al.* 2005; Lee 2009; Lee y Segundo-Galan 2011). No obstante, en la actualidad la mayor parte del hábitat ocupado por el borrego cimarrón corresponde a UMA's (Unidades de Manejo y Aprovechamiento), en donde la cacería es regulada, y se mantiene un continuo monitoreo y protección del hábitat. Esto ha motivado la fundación de ranchos cinegéticos en los Estados de Coahuila, Chihuahua y Nuevo León (Lee 2009). Además de los encierros cinegéticos y las islas mencionadas, en México el borrego cimarrón habita en distintas áreas naturales protegidas, entre ellas La Reserva de la Biósfera del Vizcaíno, el Parque Nacional Bahía de Loreto, el Parque Nacional Sierra de San Pedro Mártir, la Reserva del Pinacate, y el Gran Desierto de Altar (Medellín *et al.* 2005).

Antecedentes de diversidad genética

En 1979 se publicó el primer trabajo que reconocía la importancia de los factores genéticos en el manejo del borrego cimarrón (DeForge *et al.* 1979). En este estudio los autores afirman que además de factores como las enfermedades y disponibilidad del hábitat, los factores genéticos pueden ser determinantes en la sobrevivencia de una población. Ellos señalan que la deriva génica y la endogamia causadas por el aislamiento y el número reducido de individuos fundadores pueden afectar la sobrevivencia de las

poblaciones reintroducidas. Desde entonces se han realizado numerosos estudios de variación genética con borrego cimarrón, que han abordado distintos tópicos, desde comportamiento hasta evolución (Boyce *et al.* 1999). Uno de los principales intereses de los estudios de variación genética en borrego cimarrón es el manejo y conservación de la especie. En 1990, Berger llevó a cabo un estudio con poblaciones que contaban con registros demográficos de por lo menos 70 años, y encontró que todas las poblaciones fundadas con menos de 50 individuos se extinguieron dentro de los 50 años posteriores a su fundación. La disminución en los tamaños poblacionales no se debía a disponibilidad de alimento, clima, depredación o competencia. Berger (1990) menciona que los factores genéticos podían ser la causa de la diferencia en la sobrevivencia de las poblaciones fundadas artificialmente. Concluye que mantener niveles altos de diversidad genética puede reducir la probabilidad de extinción de las mismas (Stewart y Butts 1982; Berger 1990).

En años recientes se han llevado a cabo numerosos estudios que resaltan la necesidad de estudiar la diversidad genética en el borrego cimarrón para su manejo y conservación (Berger 1990; Luikart y Allendorf 1996; Gutierrez-Espeleta 2000; 2001; Whittaker *et al.* 2004; Epps *et al.* 2005; 2010; Hedrick 2014). En general, los patrones muestran una correlación entre la pérdida de variación genética y la sobrevivencia de la especie (Gutierrez-Espeleta *et al.* 2000; 2001; Ramey *et al.* 2000; Whittaker *et al.* 2004; Epps *et al.* 2005). Los estudios demuestran que la endogamia, las barreras antropogénicas al flujo genético y un número reducido de individuos al fundar poblaciones, reducen la variación genética, y como consecuencia la sobrevivencia de las poblaciones de borrego cimarrón (Gutierrez-Espeleta *et al.* 2000; 2001; Whittaker *et al.* 2004; Epps *et al.* 2005). Asimismo, los efectos genéticos no sólo afectan la sobrevivencia

de los individuos, sino también en su éxito reproductivo. Por ejemplo, Hedrick (2011) concluye que la reducción del tamaño de los cuernos en una población de Arizona fue debido a una mezcla de los efectos de la cacería y la depresión por endogamia.

Antecedentes de genética de poblaciones de borrego cimarrón en México

A pesar de que los primeros trabajos sobre la diversidad genética de borrego cimarrón incluyeron muestras de México (p.ej., Ramey 1991; 1995), en la actualidad existen pocos trabajos que aborden el tema de la diversidad genética en poblaciones mexicanas. En 2001 Hedrick *et al.* analizaron la diversidad genética en la población reintroducida de Isla Tiburón. Abaad-Zabaleta *et al.* (2013) analizaron una muestra más grande y agregaron una población de cautiverio. Por su parte, Rodríguez-Rodríguez *et al.* (en prensa), llevaron a cabo un análisis descriptivo usando ISSR's en el que reportan diversidad genética baja y homogénea con poca estructura genética entre las poblaciones de Sonora y Baja California Sur.

Justificación y relevancia del estudio

Los estudios previos resaltan la importancia de considerar los datos de variación genética para el diseño de estrategias de manejo y conservación del borrego cimarrón. A pesar de que se cuentan con estudios en México, éstos aún dejan abiertas preguntas relevantes como:

- ¿Cuánta diversidad genética hay y como se distribuye en México?
- ¿Las distintas poblaciones de borrego cimarrón representan unidades genéticas

distintas?

- ¿Cuál es el efecto de las prácticas de manejo en la diversidad del borrego cimarrón, tanto en estado silvestre como en cautiverio?
- ¿Cuál es el efecto diferencial en la variación genética de la historia natural del borrego cimarrón y los efectos antropogénicos?

En el presente estudio se llevó a cabo un análisis de genética de poblaciones del borrego cimarrón en México. En particular se evaluaron los niveles de diversidad genética, cómo se distribuye geográficamente y los efectos del manejo sobre dicha diversidad genética. El análisis se dividió en dos partes, primero se exploraron los efectos en la variación genética por la fundación de la población de borrego cimarrón en Isla Tiburón. La segunda parte aborda un análisis global de diversidad genética de las poblaciones de borrego cimarrón en Sonora y Baja California Sur, considerando poblaciones silvestres y de cautiverio.

Objetivos

- Llevar a cabo un análisis de genética de poblaciones del borrego cimarrón en México, con fines de manejo y conservación.
- Conocer la magnitud y distribución de la variación genética en poblaciones silvestres y de cautiverio en Sonora y Baja California Sur.
- Evaluar el impacto de las prácticas de manejo así como factores naturales históricos en la diversidad genética en dos subespecies de borrego cimarrón.
- Elaborar propuestas que ayuden al manejo y conservación del borrego cimarrón en México.

Primera parte: Evaluación de la diversidad genética y tamaño efectivo en el borrego cimarrón de Isla Tiburón. La historia detrás de la diversidad genética y su utilidad para el manejo.

La población de borrego cimarrón de Isla Tiburón como modelo de estudio

La población de borrego cimarrón de Isla Tiburón (Fig. 3.3) fue reintroducida en 1975 usando 16 individuos (14 hembras y 2 machos) capturados en las regiones montañosas de Punta Chueca, Sonora (Montoya y Gates 1975). La población ha tenido un crecimiento demográfico constante desde su fundación, llegando a tener más de 700 individuos (DeForge y Valdez 1948; Lee y Lopez-Saavedra 1993; Colchero *et al.* 2009). Incluso se ha sugerido que la Isla llegó a su capacidad de carga (Colchero *et al.* 2009).

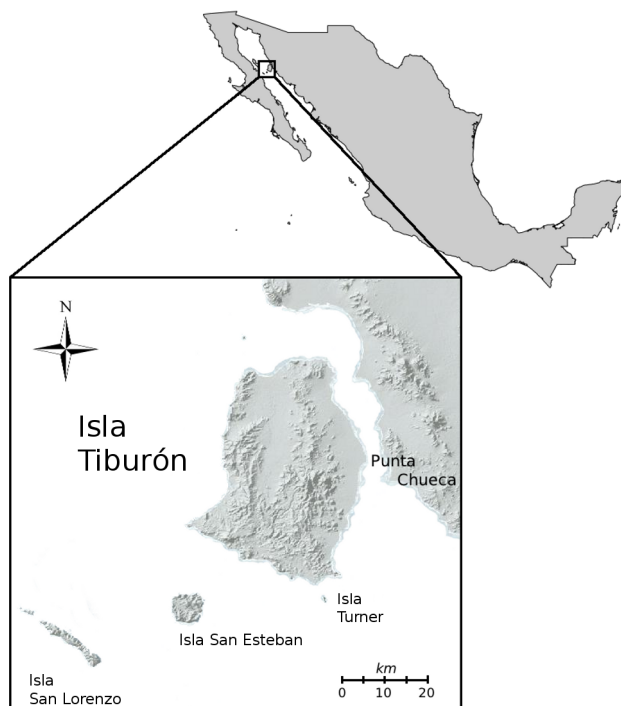


Figura 3.3. Ubicación geográfica de Isla Tiburón.

Si se considera que los estudios previos en borrego cimarrón indican que las poblaciones fundadas con pocos individuos (< 50 ; Berger 1990; Whittaker *et al.* 2004) presentan problemas de diversidad genética y sobrevivencia, surgen preguntas relevantes: ¿La población en la Isla Tiburón representa un muestreo adecuado de la diversidad genética de la población origen? ¿La población ha sufrido un cuello de botella genético? ¿Cuáles pueden ser los efectos en la diversidad genética y sobrevivencia a futuro en poblaciones fundadas por individuos de Isla Tiburón?

Debido a que se cuenta con el registro del número de fundadores (Montoya y Gates 1975), datos demográficos (Lee y Lopez-Saavedra 1993; Lee 2001; Medellín *et al.* 2005), y la población ha permanecido aislada desde su fundación, la población de borrego cimarrón de Isla Tiburón es un modelo ideal para explorar los efectos de un cuello de botella genético. La primer aproximación para explorar la variación genética en Isla Tiburón fue llevada a cabo por Hedrick *et al.* (2001), quienes llevaron a cabo un elegante análisis (aunque limitado en muestras, $N=14$) de pérdida de variación genética, en el que encontraron baja heterocigosis esperada, así como un número efectivo de fundadores menor al número de fundadores real. En el 2012 se llevó a cabo un segundo análisis de ésta población usando un número de muestra mayor ($N=77$), sin embargo el análisis se limitó a un reporte de valores de heterocigosis y estadísticos F' (Abaad-Zavaleta *et al.* 2012).

El estudio de la variación genética en poblaciones aisladas y el tamaño efectivo

La tasa de pérdida de la variación genética (neutral) en una población aislada

depende principalmente de su tamaño efectivo, N_e , y su tiempo de establecimiento (Ewens 1990; Ballou y Foose 1996; Charlesworth 2009). Considerando lo anterior, la estimación del tamaño efectivo es relevante para el manejo de poblaciones en cautiverio. De hecho se ha vuelto un parámetro comúnmente usado en estudios de genética de la conservación (Leberg 2005; Wang 2005; Luikart *et al.* 2010).

El tamaño efectivo (N_e) se define como el tamaño de una población idealizada (apareamientos aleatorios, generaciones discretas y tamaño constante) que tiene la misma tasa de pérdida de diversidad genética por endogamia y deriva génica que la población real (Wright 1931). Basados en las propiedades genéticas de interés, se han propuesto diferentes definiciones de N_e , así como métodos para su estimación (Ewens 1990; Crow y Kimura 1970). La elección de la definición va a depender del tipo de marcador, características del sistema biológico, muestreo, y sobretodo el problema que se pretenda resolver (Ewens 1990; Caballero 1994; Leberg 2005). Además, la estimación del tamaño efectivo permite conocer la historia detrás de la variación genética (es decir, permite evaluar la influencia de los efectos históricos y recientes), y predecir su comportamiento a futuro.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar el nivel de variación genética de la población de borrego cimarrón en Isla Tiburón, usando un enfoque de tamaño efectivo poblacional.

Objetivos particulares

- Conocer los niveles de variación genética en la población de borrego cimarrón de Isla Tiburón.
- Aproximar el tamaño efectivo N_e de la población.
- Proponer el escenario demográfico más probable que explique la diversidad genética observada, incluyendo la propia fundación y eventos históricos de la especie.
- Predecir los posibles resultados de usar a la población de Isla Tiburón como única fuente de individuos para fundar nuevas poblaciones, en términos de tamaño efectivo y diversidad genética.
- Comparar los resultados obtenidos con otras especies, reanalizando datos previamente publicados de borrego cimarrón y otros artiodáctilos.

Método

Obtención de muestras y extracción de ADN

Se colectaron muestras de pelo de 63 individuos capturados en las cadenas montañosas de la población de Isla Tiburón (desde aquí referida como IT). En la época de muestreo las hembras y los machos se encuentran segregados en diferentes rebaños, por lo que el muestreo fue diseñado para obtener muestras del mayor número de rebaños

posible. Las muestras de pelo fueron colectadas en sobres de papel y almacenadas en un ultracongelador a -80°C hasta su uso. La extracción de ADN se llevó a cabo usando 15-25 pelos por individuo mediante un protocolo Chelex (Chelex 100, Bio-Rad, Apéndice P.1).

Amplificación y genotipación de marcadores moleculares

Para evaluar la diversidad genética nuclear, se utilizó un juego de 12 microsatélites aislados de *Ovis aries* o *Bos taurus*. Estos loci fueron elegidos porque han sido reportados como polimórficos y no ligados. La descripción de los microsatélites, así como las condiciones de amplificación se reportan en el Apéndice P.3. Para reducir el error de genotipación debido a artefactos de amplificación, el 30% de una submuestra aleatoria fue reamplificada para todos los microsatélites. La genotipación de los microsatélites fue llevada a cabo usando Peak Scanner v 1.0 (Applied Biosystems, 2006). Todos los cromatogramas fueron inspeccionados de manera visual con el software. Para detectar errores por artefactos de amplificación, se usó el software Microchecker v 2.2.3 (van Oosterhout *et al.* 2004).

La variación genética mitocondrial se evaluó usando 550 pares de bases de la región control mitocondrial. Las secuencias de los primers usados así como las condiciones de amplificación se reportan en el Apéndice P.2. El ensamble y la evaluación de la calidad de las secuencias se llevó a cabo con Consed v 1.9 (Ewing y Green 1998; Gordon *et al.* 1998), el alineamiento de las secuencias se llevó a cabo con ClustalX v 2.1 (Larkin *et al.* 2007).

Análisis de los datos

Estadísticos de resumen y estructura genética

Para estimar la diversidad genética de los microsatélites, se estimó la heterocigocis esperada (H_E), la heterocigocis observada (H_O) y el número promedio de alelos (na) usando Arlequin v 3.5 (Excoffier y Schneider 2005). La prueba por desviaciones de las proporciones de Hardy-Weinberg se llevó acabo usando la estimación del estadístico F_{IS} (Wright 1965) con Genepop v 4.1 (Rousset 2008). La significancia del mismo fue obtenida con la prueba exacta de Fishser con 10,000 pasos de “*dememorisation*”, 1,000 “*batches*”, y 5,000 iteraciones por “*batch*”. La prueba de desequilibrio de ligamiento fue implemetada usando también el software Genepop con los settings por default.

Para detectar estructura genética dentro de la isla se utilizó el programa STRUCTURE v 2.3 (Pritchard *et al.* 2000; Falush *et al.* 2003), usando el modelo “*admixture*”. Las corridas se llevaron acabo con un periodo inicial de “*burning*” de 250,000 pasos seguido de 500,000 cadenas MCMC. El intervalo de número de grupos posibles (k) fue de 1 a 10 con 30 réplicas para cada uno. Para obtener el valor de k más probable se aplicó el método de Evanno *et al.* (2005), usando Structure Harvester (Earl y von Holdt 2011). Debido a que éste método excluye los valores extremos de k , se elaboró un gráfico de cada valor de k contra su respectiva probabilidad, el cual se inspeccionó de manera visual y se eligió el valor de k con mayor probabilidad y menor varianza. La diversidad genética del marcador mitocondrial fue estimada mediante la diversidad nucleotídica (π), número de haplotipos y diversidad haplotípica usando DnaSP v 5.10 (Librado y Rozas 2009).

Estimación del tamaño efectivo

Para estimar el tamaño efectivo actual e histórico de la población, se aplicó el método propuesto por Beaumont (1999), y Storz y Beaumont (2002). Este método explora hipótesis acerca de la señal demográfica de expansión o contracción en una población cerrada usando simulaciones de coalescencia. Cada hipótesis arroja un juego de parámetros que son evaluados por inferencia bayesiana. El método fue escogido porque no requiere datos de la historia de vida, sólo necesita un muestreo temporal, y además permite la variación de parámetros entre loci (como las tasas de mutación), por lo que es adecuado para microsatélites. Además, este análisis ha probado su eficacia en estudios con otras especies como lemures (Olivieri *et al.* 2008) y martas (Tucker *et al.* 2012), y ha demostrado su robustez para detectar cambios en el tamaño poblacional (Girod *et al.* 2011). La implementación de este método incluye dos pasos. Primero se detecta el cambio en el tamaño efectivo y posteriormente se cuantifica y fecha tal cambio. El primer paso fue implementado con MSVAR v 0.4.1 (Beaumont 1999). El programa estima la proporción de cambio en el tamaño efectivo r , definido como N_{cmt}/N_{stbl} , donde N_{cmt} es el tamaño efectivo actual y N_{stbl} es el tamaño efectivo ancestral estable, es decir el tamaño efectivo antes de que hubiera algún cambio. Esta proporción está expresada en logaritmo base 10, de tal manera que si el valor de r es negativo, la población ha disminuido, si tiene un valor positivo la población ha estado en expansión, mientras que un valor de $r=0$, indica que la población ha permanecido estable. En el caso de que el 95% del Intervalo de Alta Densidad (HDI, por sus siglas en inglés) de la distribución posterior del valor obtenido de r no alcance cero, se considera como un cambio en el tamaño efectivo. El segundo paso se llevó a cabo usando el software MSVAR v 1.3 (Storz y Beaumont 2002), con el que se estimó el tiempo en años desde que la

población comenzó a cambiar (Tfa), así como los tamaños efectivos ancestrales y actuales (N_{stbl} y N_{cmt}). Para estimar el tiempo de cambio en años, se consideró el tiempo generacional como la edad promedio de la madurez sexual de las hembras (AnAge Database; de Magalhaes y Costa 2009). En ambos software se llevaron a cabo cinco corridas independientes con variaciones en los parámetros iniciales. Las condiciones de las corridas se reportan en el Apéndice S.2. La convergencia de las Cadenas Monte Carlo Markov (MCMC) se comprobó con la prueba de Gelman-Rubin (Gelman y Rubin 1992), sugerido así por los autores del software. La prueba fue aplicada usando el paquete “coda” (Plummer *et al.*, 2006) en el software R 2.12.1 (R Development Core Team, 2012). Los análisis de las distribuciones posteriores de los parámetros estimados se hicieron con los paquetes “locfit” (Loader 2012) y “hdcde” (Hyndman *et al.* 2012). Los análisis de cambio demográfico fueron hechos considerando los grupos obtenidos por STRUCTURE, con el fin de evitar señales falsas de colapso poblacional debido a la estructura genética. Los valores de cada parámetro fueron reportados como el valor modal de la distribución posterior usando el primer y tercer cuartil como medida de dispersión. Finalmente, para probar las diferencias entre los parámetros obtenidos entre las distintas muestras poblacionales se aplicó el Estimador Bayesiano Robusto (Robust Bayesian Estimate, RBE; Kruschke 2012). Esta aproximación permite tomar una decisión discreta de la diferencia en el valor de dos distribuciones, es decir, la significancia de la diferencia entre dos valores. Además provee de un estimado de las diferencias entre estos valores expresado como la diferencia media de la distribución posterior marginal incluyendo un 95% HDI. Éste análisis se llevó a cabo con el paquete “BEST” (Kruschke 2012) implementado en R usando los parámetros por default. Las líneas de comandos usadas para obtener los parámetros, verificar la convergencia de las distintas corridas, así como generar los gráficos aquí presentados, se reportan en los apéndices S8 y S9.

Selección de escenarios y análisis ABC (Approximate Bayesian Computation)

Para conocer la magnitud del cuello de botella genético (o si existió tal) debido a la fundación de IT, se implementó un análisis ABC (Approximate Bayesian Computation). El objetivo fue aproximar el tamaño efectivo de la población de Sonora que pudiera explicar la cantidad de variación genética observada en IT. Se simularon distintos escenarios considerando 4 intensidades de cuello de botella (Fig. 3.4).

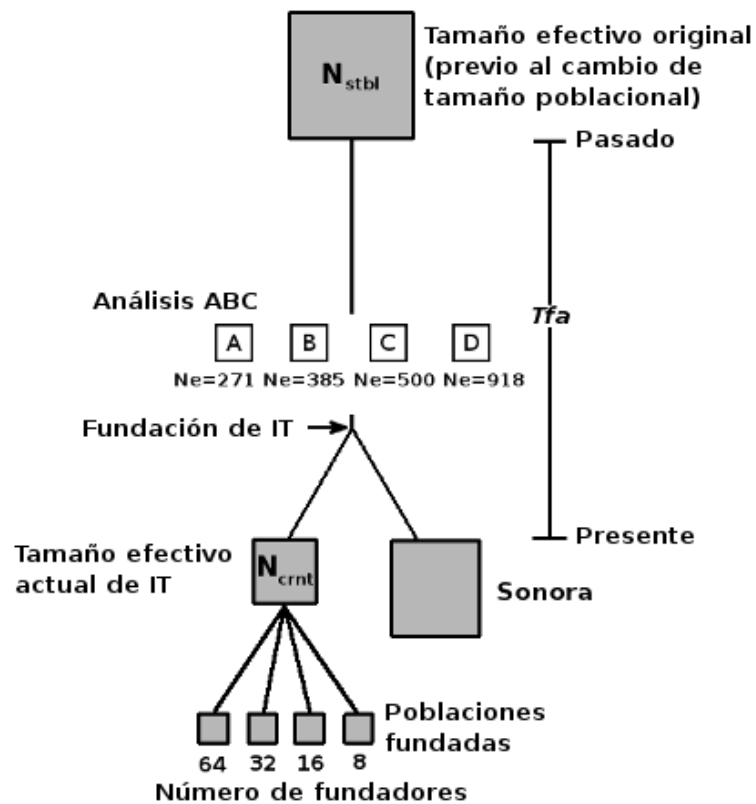


Figura 3.4. Esquema de los escenarios simulados para el análisis ABC. Ver los detalles de las simulaciones en el texto.

Para estos escenarios se usaron los datos reales de fundación de IT (32 años, al tiempo de muestreo), el número real de fundadores (14 individuos), y para los tamaños efectivos se consideraron los resultados obtenidos con MSVAR. El análisis se llevó a cabo con el software DIY-ABC v 1.0.4.37 (Cournet *et al.* 2010). Los las simulaciones

consideraron un tamaño efectivo de IT de $N_e=271$ (obtenido previamente con MSVAR) y los escenarios fueron los siguientes: A, no hay cuello de botella (población fuente $N_e=271$); B, cuello de botella pequeño (población fuente $N_e=385$); C, cuello de botella intenso (población fuente $N_e=500$), y D, cuello de botella muy severo población fuente (población fuente $N_e=918$) (Fig. 3.4) La selección del escenario más probable se llevó a cabo usando las pruebas estadísticas implementadas en el software. Una vez con el escenario más probable, se infirió el posible impacto de usar IT como fuente única de individuos para la fundación de nuevas poblaciones. Se llevaron a cabo simulaciones usando 8, 16, 32 y 64 individuos fundadores (Fig. 3.4).

Comparación con otros artiodáctilos

Para comparar los resultados con otras poblaciones y especies, se reanalizaron juegos de datos previamente publicados de siete poblaciones de borrego cimarrón (Gutierrez-Espeleta *et al.* 2001; Whittaker *et al.* 2004), tres de bisonte de la pradera (Halbert y Derr 2008), una de oryx árabe (Arif *et al.* 2010), y una de muntjac negro de China (Ni *et al.* 2009). La estimación de los tamaños efectivos de cada población se realizó con MSVAR usando el mismo esquema (Apéndice S.2). Los detalles y características de cada población se reportan en la Tabla 3.1

Tabla 3.1. Información acerca de las especies incluidas en el estudio, localidad de origen, tamaño de muestra (N), número de loci (L), tamaño censal estimado (N_{census}), observaciones, y referencias.

Especie	Localidad	N/L	N_{census}	Observaciones	Referencia
<i>Ovis canadensis mexicana</i>	Isla Tiburón, Sonora, México (TI)	63/12	650-700	16 individuos fundadores. Crecimiento continuo de la población.	Este estudio; Montoya y Gates 1979
<i>Ovis canadensis</i>	Red Rock Refuge, New Mexico, USA	25/10	100-200	Población de cautiverio derivada de la población de San Andres,	Gutierrez-Espeleta <i>et al.</i>

<i>mexicana</i>	(RRNM)			Nuevo Mexico.	2000
<i>Ovis canadensis canadensis</i>	Sheep River Alberta, Canada (SRA)	55/10	60-150	Población históricamente grande, contacto con otras poblaciones.	Gutierrez-Espeleta <i>et al.</i> 2000
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Hart Mountain Oregon, USA (HMO)	16/11	270	20 fundadores, aislamiento y decline de la población.	Whittaker <i>et al.</i> 2004
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Leslie Gulch Oregon, USA (LGO)	23/11	125	82 fundadores procedentes de Hart Mt. Múltiples eventos de introducción.	Whittaker <i>et al.</i> 2004
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Steens Mountain Oregon, USA (SMO)	18/11	185	Fundada por individuos de Hart Mt. (152 en total), decline de la población.	Whittaker <i>et al.</i> 2004
<i>Ovis canadensis californiana</i>	John Day River Oregon, USA (JDO)	19/11	310	Varias introducciones, la mayoría de Hart Mt .	Whittaker <i>et al.</i> 2004
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Santa Rosa Mountains Nevada, USA (SRN)	31/11	295	Reintroducción de múltiples fuentes (53 in total).	Whittaker <i>et al.</i> 2004
<i>Bison bison</i>	Sully's Hill National Game Preserve, North Dakota, USA (SUH)	29/14*	35	19 fundadores de 5 fuentes.	Halbert y Deer 2008
<i>Bison bison</i>	Wind Cave National Park, South Dakota, USA (WCNP)	345/14*	350	20 fundadores de 2 fuentes (14 de zoológicos y 6 de YNP).	Halbert y Deer 2008
<i>Bison bison</i>	Yellowstone National Park, Wyoming, USA (YNP)	505/14*	3,000	51 fundadores de 3 fuentes (30 nativos y 21 de ranchos privados).	Halbert y Deer 2008
<i>Oryx leucoryx</i>	Mahazat As-Sayd Protected Area, Saudi Arabia (MNWSA)	24/7	200	Población fundada de 7 grupos diferentes.	Arif <i>et al.</i> 2010
<i>Muntiacus crinifrons</i>	Hefei Wild Animal Park, China (HWCH)	14/11	45	Población fundada de una fuente silvestre	Ni <i>et al.</i> 2009

*14 loci seleccionados por los autores del estudio debido a su alto número de alelos.

Resultados

Diversidad y estructura genética

Se encontraron un total de 40 alelos para los 12 microsatélites genotipados. El número de alelos por locus fue de 2 a 7, mientras que el número promedio de alelos por locus (n_a) fue de 3.33. Los detalles de cada marcador se reportan en el Apéndice S.3. En general, el número de alelos por locus fue más bajo que lo reportado para borrego cimarrón, aunque más alto que lo reportado por Hedrick *et al.* (2001) para IT.

El análisis de Microchecker mostró la presencia de alelos nulos en el locus *OarFCB266*, sin embargo los análisis posteriores de ABC, mostraron que la señal de alelos nulos puede ser explicada por el cuello de botella que sufrió IT en su fundación, por lo cual éste locus se conservó para los análisis posteriores.

En la Tabla 3.2 se reportan los valores de diversidad genética obtenidos para IT. El valor de H_E fue de 0.501, mientras que H_o fue de 0.472, la diversidad genética por locus resultó muy variable, con el locus *MAF48* con $H_E = 0.238$ y 2 alelos, y *BM848* con $H_E = 0.738$ y 7 alelos (Apéndice S.3). Se observaron valores positivos y negativos de F_{IS} en los distintos loci, sin embargo, sólo *OarFCB266* ($F_{IS} = 0.3629$, $p = 0.011$) y *BM1818* ($F_{IS} = -0.0016$, $p = 0.044$) mostraron valores significativos. De manera global, para todos los microsatélites se obtuvo un valor significativo de $F_{IS} = 0.058$ ($p = 0.008$), lo que indica una desviación de las proporciones de H-W por deficiencia de heterócigos.

Las pruebas de desequilibrio de ligamiento mostraron 7 pruebas pareadas significativas ($p < 0.05$). Cabe señalar que los microsatélites usados en éste estudio se encuentran localizados en cromosomas distintos (Apéndice P.3), excepto por *OarFCB128* y *BM2113*, ambos localizados en el cromosoma 2, pero con una distancia mayor a 250 cM. Este resultado se interpretó como una señal de cuello de botella genético, ya que el

desequilibrio de ligamiento en loci no ligados puede resultar por la reducción del tamaño efectivo y deriva génica (Hedrick 2011). Por su parte, el análisis de STRUCTURE mostró el mayor valor de probabilidad con $k=1$, por lo que la población de IT fue considerada como un sólo grupo para los análisis posteriores.

Tabla 3.2. Valores de H_E , n_a , la proporción de cambio (r), tamaño efectivo actual (N_{crnt}), tamaño efectivo ancestral estable (N_{stbl}), y el tiempo en años del cambio en el tamaño poblacional (Tfa). Los números entre paréntesis corresponden a los 1^{er} y 3^{er} cuartiles de la distribución posterior de los parámetros.

Especie	Clave	H_E/n_a (s.d.)	r	N_{crnt}	N_{stbl}	Tfa
<i>O.c. mexicana</i>	TI	0.501(0.155)/ 3.33(1.435)	-2.19	271 (145 - 436)	10,522 (6,237 - 20,941)	3,155 (1,517 - 6,123)
<i>O.c. mexicana</i>	RRNM	0.36(0.268)/ 2.4(0.843)	-2.81	191 (63 - 289)	12,148 (6,823 - 26,792)	3,211 (862 - 5,728)
<i>O.c. canadensis</i>	SRA	0.596 (0.153)/ 4.4(1.173)	*	388 (158 - 585)	10,551 (6,339 - 17,906)	1,857 (723 - 3,457)
<i>O.c. californiana</i>	HMO	0.35 (0.262)/ 2.22(1.09)	-2.77	62 (25 - 101)	56,865 (27,415 - 123,027)	2,951 (1,196 - 5,202)
<i>O.c. californiana</i>	LGO	0.34 (0.220)/ 2.33(0.71)	-3.13	42 (15 - 72)	43,822 (21,379 - 86,497)	1,508 (564 - 2,756)
<i>O.c. californiana</i>	SMO	0.32(0.254)/ 2.22(0.97)	-3.28	37 (12 - 62)	46,206 (24,099 - 93,111)	1,404 (500 - 2,518)
<i>O.c. californiana</i>	JDO	0.39 (0.232)/ 2.44(0.88)	-2.89	57 (22 - 99)	39,210 (20,464 - 74,645)	1,938 (725 - 3,188)
<i>O.c. californiana</i>	SRN	0.57 (0.211)/ 3.78(1.39)	-2.50	102 (34 - 179)	25,194 (14,622 - 44,055)	1,409 (478 - 2,477)
<i>B. bison</i>	SUH	0.604 (0.137)/ 4(1.35)	*	45 (12 - 83)	17,853 (11,588 - 29,512)	440 (140 - 797)
<i>B. bison</i>	WCNP	0.650 (0.141)/ 4.92(1.859)	-2.24	103 (33 - 162)	19,006 (11,885 - 30,690)	732 (264 - 1,229)
<i>B. bison</i>	YNP	0.619 (0.120)/ 4.17(1.13)	*	220 (78 - 350)	24,980 (15,812 - 40,087)	1,803 (664 - 3,133)
<i>O. leucoryx</i>	MNWSA	0.565 (0.078)/ 3(0.816)	-4.21	361 (163 - 587)	77,821 (24,889 - 242,103)	11,837 (3,606 - 24,266)
<i>M. cinifrons</i>	HWCH	0.675 (0.137)/ 5.3(1.368)	*	487 (195 - 771)	77,357 (48,641 - 122,744)	1,508 (610 - 2,415)

* Las distintas corridas no mostraron convergencia (Estadístico Gelman-Rubin 97.5% cuartiles >1.02)

El análisis de la diversidad genética mitocondrial mostró dos haplotipos previamente reportados para borrego cimarrón en Genbank (Números de acceso: AY116621 y AY116622). El haplotipo AY116621 fue predominante en la muestra (97%). Se encontraron 11 sitios segregantes, con una diversidad haplotípica de 0.125, y una diversidad nucleotídica de $\pi=0.00249$.

Demografía y tamaño efectivo

La población de Isla Tiburón mostró una fuerte señal de un cuello de botella genético. El estimado r de MSVAR fue de -2.192, mientras que los estimados del tamaño efectivo actual e histórico fueron de $N_{crrt}=271$ y $N_{stbl}=10,522$ individuos. La fecha del evento de reducción poblacional fue $Tfa= 3,155$ años, por mucho previa a la fundación de IT (Tabla 3.2). Los análisis ABC mostraron que el escenario C (Fig. 3.4) tuvo la mayor probabilidad, lo que sugiere que un tamaño efectivo de alrededor de $Ne=500$ de la población fuente de Sonora puede explicar la cantidad de variación genética observada en IT (Fig. 3.5).

Los análisis de los juegos de datos simulados para este escenario mostraron un valor promedio de $H_E=0.4897$ y $na =3.639$ para las simulaciones de IT, mientras que la población simulada de Sonora mostró $H_E=0.5136$ y $na=4.168$. Las simulaciones de las poblaciones fundadas a partir de IT mostraron una notable una disminución de tanto H_E como en na como consecuencia de la reducción del número de fundadores (Fig. 3.5), la tendencia a la reducción también fue observada en los estimados de tamaño efectivo.

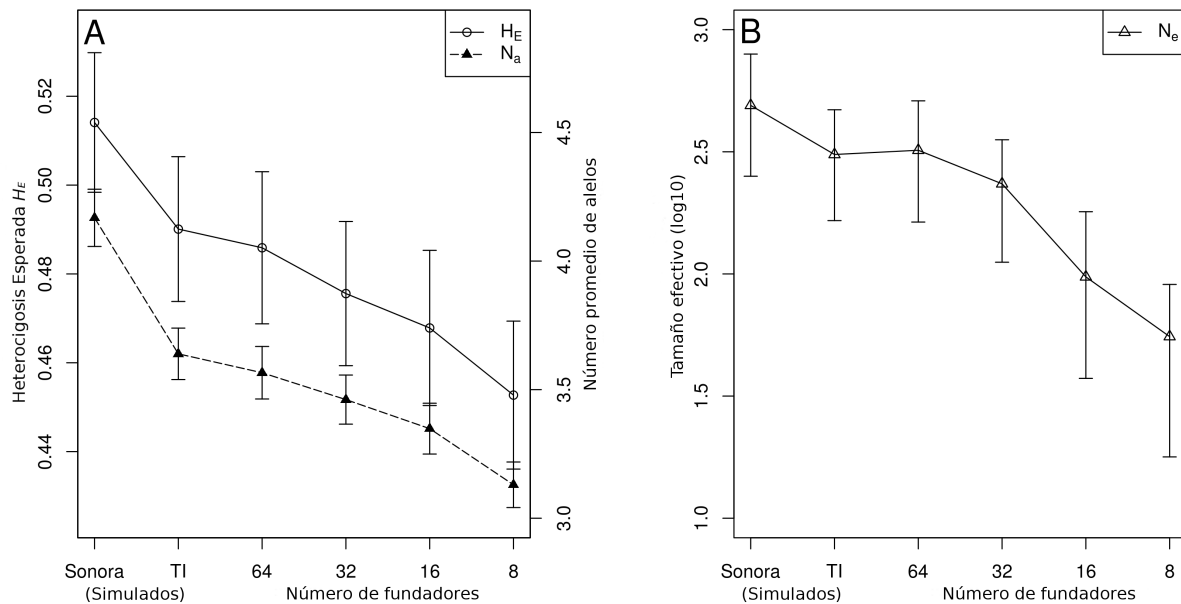


Figura 3.5. Gráficos de la pérdida de diversidad genética (**A**) y tamaño efectivo actual (N_{cmt}) (**B**) por la fundación de nuevas poblaciones a partir de IT, usando distintos números de fundadores. Las barras de error corresponden al error estándar.

Comparaciones con otros artiodáctilos

Todas las poblaciones analizadas mostraron señales de reducción en el tamaño poblacional (Tabla 3.2). Los estimados de cambio en el tamaño poblacional r tuvieron un intervalo de -2.24 para la población de bisontes de WCNP a -4.21 para la población del oryx árabe de MNWSA. A pesar de que algunas poblaciones no llegaron a convergencia de MCMC en sus valores de r (SRA, HWCH, YNP, y SUH), los estimados de N_{cmt} y N_{stbl} no se sobrelaparon en los 95% HDI de la distribución posterior, lo cual se tomó entonces como un cambio significativo.

Los valores de tamaño efectivo actual (N_{cmt}), mostraron notables diferencias dentro y entre especies (Tabla 3.2 y Fig. 3.6). Por ejemplo, para borrego cimarrón el valor de N_{cmt}

más pequeño fue de 37 para la población SMO de Óregon mientras que la población de Alberta (SRA) obtuvo $N_{cmt}=388$. Para los bisontes, los valores de N_{cmt} fueron de 45, 103, y 220 para SUH, WCNP, y YNP. El estimado de N_{cmt} para el muntjac negro (HWCH) fue de 487 y de $N_{cmt}=361$ para el oryx árabe (MNWSA). Las comparaciones pareadas mediante RBE mostraron que los valores de tamaño efectivo fueron significativamente diferentes (Apéndice S.4).

Los estimados del tamaño poblacional ancestral estable N_{stbl} , en los borregos cimarrones fueron muy distintos entre las poblaciones, teniendo valores desde 10,522 hasta 56,856 individuos (Fig. 3.6 y Tabla 3.2). Las poblaciones de bisonte mostraron valores de N_{stbl} , más uniformes, desde 17,853 a 24,980 individuos, mientras que ambas especies asiáticas mostraron valores de alrededor de 77,000 individuos.

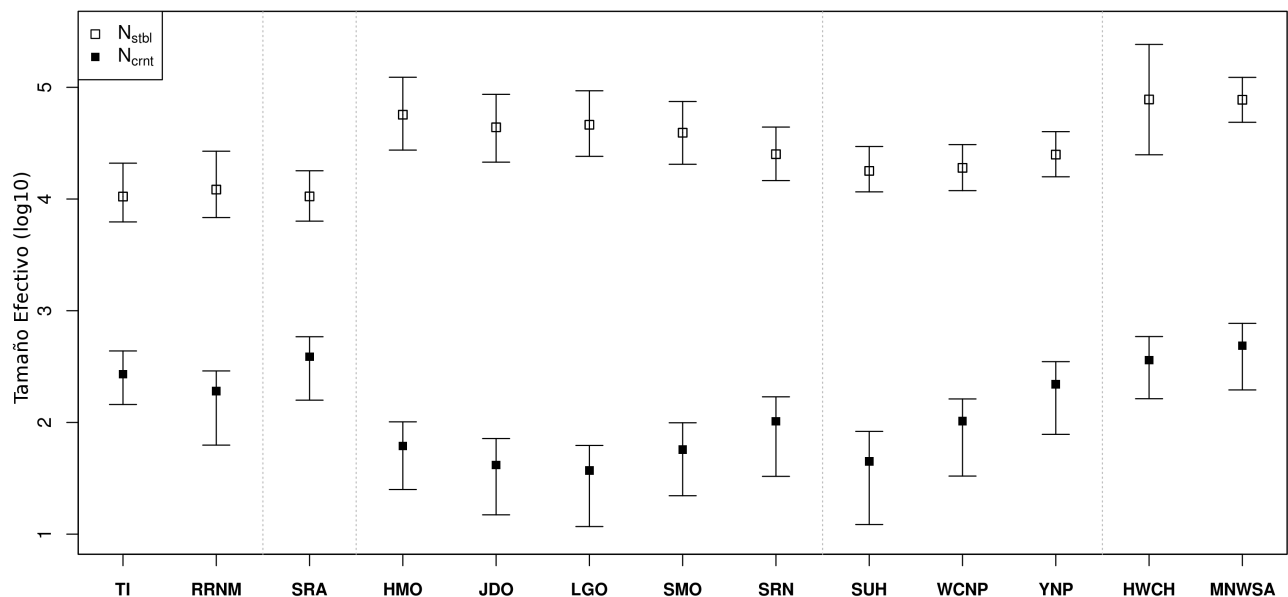


Figura 3.6. Estimados del tamaño efectivo actual (N_{cmt}), tamaño efectivo ancestral estable (N_{stbl}) para los artiodáctilos incluidos en este estudio. Las barras de error corresponden a los 1^{er} y 3^{er} cuartiles de la distribución posterior de los parámetros.

Los estimados de las fechas del cambio del tamaño poblacional Tfa , fueron muy variables (Fig. 3.7 y Tabla 3.2). Llama la atención que todos los valores de Tfa para borrego cimarrón fueron más antiguos que 1,000 años, desde 1,404 años para la población SMO de Óregon, hasta 3,155 años para la población de IT. La población de bisonte de YNP, mostró un valor que coincide con a los obtenidos para borrego cimarrón ($Tfa=1,803$ años). Sin embargo, las otras dos poblaciones mostraron valores de Tfa muy recientes, menores a 800 años. Por su parte, el oryx árabe también mostró un valor similar de Tfa a lo observado en el borrego cimarrón, mientras que el muntjac negro obtuvo un valor de $Tfa=11,837$ que fue la fecha más antigua obtenida en el presente estudio (Fig. 3.7, Tabla 3.2).

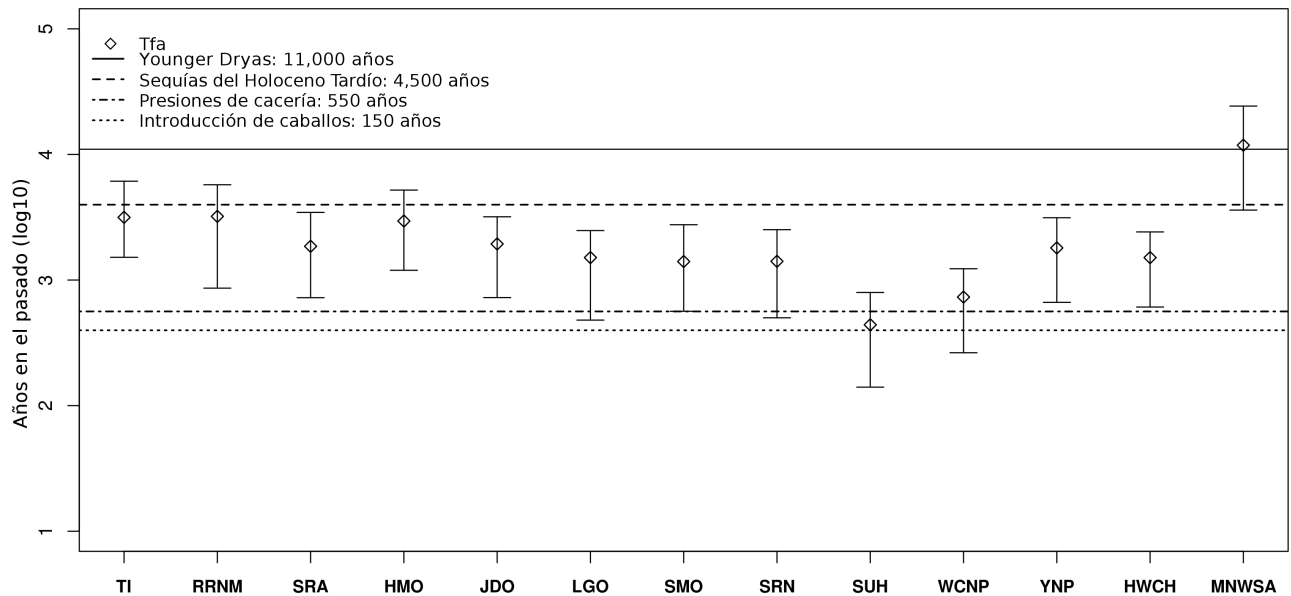


Figura 3.7. Tiempo del cambio en el tamaño poblacional (Tfa) para las especies incluidas en el presente estudio. Las líneas representan distintos eventos del pasado, el Younger Dryas, sequías del Holoceno tardío, presiones de cacería por parte de los colonizadores europeos, y la introducción de caballos a norteamérica. Las barras de error corresponden a los 1^{er} y 3^{er} cuartiles de la distribución posterior de los parámetros.

Discusión

La población de borrego cimarrón en Isla Tiburón mostró una diversidad genética menor comparada con otras poblaciones de vida libre, aunque mayor que lo reportado para otras poblaciones de cautiverio o bajo manejo (Tabla 3.2). El valor de H_E fue mayor al reportado por Hedrick *et al.* (2001) (0.501 vs 0.420, Tabla 3.2), no obstante este resultado puede deberse al las diferencias en el número de muestras.

A pesar de la diversidad genética encontrada, los análisis indican que población de IT sufrió de un cuello de botella genético. Los análisis ABC mostraron que la fundación de IT conllevó a una reducción tanto en la diversidad genética como en el tamaño efectivo (Fig. 3.5). De hecho, para el tamaño efectivo la reducción fue de casi la mitad. Además, los análisis mostraron que el uso de IT como fuente de individuos para fundar poblaciones puede causar una severa reducción del tamaño efectivo y diversidad genética, especialmente cuando se usan pocos individuos (Fig. 3.5). Por ejemplo, usando 16 individuos, se observó una reducción del 3% en H_E y de alrededor del 25% en el tamaño efectivo actual, mientras que usando 8 fundadores la reducción de H_E fue del 8%, mientras que el tamaño efectivo se redujo en un 82%. Además de la evidente reducción en la diversidad genética, este resultado muestra que el tamaño efectivo es un indicador más sensible a los cuellos de botella, por lo que es un parámetro útil para aproximar y predecir la pérdida de variación genética.

Tomando en cuenta los resultados, no es recomendable usar IT como fuente única de individuos para fundar nuevas poblaciones debido a que estarán sujetas a deriva génica, lo que puede reducir la variación genética y por consiguiente afectar su

adecuación. En este sentido, lo más recomendable es complementar las reintroducciones o fundaciones con individuos de otras localidades que no tengan individuos de IT. Con esta acción se evitaría la reducción del tamaño efectivo y la consecuente pérdida de variación genética en las poblaciones fundadas.

Sin embargo, ¿Qué puede explicar el éxito de la población de IT, así como sus niveles relativamente altos de variación genética? Por una parte, se ha reportado que la falta de depredadores y el hábitat adecuado promovieron el crecimiento demográfico de *O. canadensis* en IT (Krausman y Shackleton 2000; Colchero *et al.* 2009). Sin embargo, el crecimiento demográfico por sí mismo no garantiza el mantenimiento de la diversidad genética. Por ejemplo, en una población de *Oreamnos americanus* en cautiverio se observó que si bien había un crecimiento demográfico estable, la población mostraba continua pérdida de variación genética (Ortego *et al.* 2011). Los autores señalan que esto sucedió por una combinación de la endogamia asociada a la estructura social de la especie, y a la deriva génica producto del aislamiento de la población. En el caso del borrego cimarrón, se ha reportado que la segregación sexual está influenciada por la presencia de depredadores, y que en su ausencia los rebaños presentan una composición más homogénea de los sexos, lo que permite que las hembras se apareen con varios machos a pesar de dominancia la jerárquica (Mooring *et al.* 2003). Este fenómeno pudo minimizar los efectos de la endogamia en el tamaño efectivo en IT, aunque cabe mencionar que se desconoce si los grupos de animales se comportan como unidades aisladas o como una sola población durante todo el año. En este sentido, el valor de F_{IS} observado ($F_{IS}=0.058$) pueden reflejar un efecto Wahlund causado por la subestructura dentro de la población y no necesariamente por la fundación de IT. Otro factor que puede estar promoviendo altos niveles de diversidad genética en IT es la selección natural.

Kaeuffer *et al.* (2007) observaron que en una población de mouflones (*Ovis aries*) fundada por dos individuos, los niveles de variación genética eran tan altos que no concordaban con los efectos de la deriva génica. Ellos sugieren que la selección natural puede estar jugando un papel importante en el mantenimiento de la diversidad genética. También se ha sugerido que en el borrego cimarrón la variación genética es mantenida por selección natural, en particular cuando existe depresión por endogamia (Gutierrez-Espelta *et al.* 2001). Otro factor que pudo beneficiar a la población de IT, es que recientemente se encontraron restos óseos de *O. canadensis* en la isla con una antigüedad de 1,476–1,632 años (Wilder *et al.* 2014), lo cual indica que la isla no sólo tiene un hábitat adecuado, sino que formaba parte de su distribución original.

Diversidad genética y tamaño efectivo

En general se observó una correlación positiva entre H_E y el tamaño efectivo. Sin embargo, se observaron excepciones en varias de las poblaciones estudiadas. Por ejemplo, en las poblaciones de borrego cimarrón, el tamaño efectivo actual (N_{ctn}) de IT fue mayor que la población de SRN, aunque la última tiene un valor más alto de H_E . De manera similar, la población de RRNM mostró un valor de H_E relativamente bajo, aunque su tamaño efectivo actual fue más grande que todas las poblaciones de borregos de Óregon (HMO, LGO, SMO, y JDO) (Fig. 3.6 y Tabla 3.2). En las poblaciones de bisontes, WCNP presentó un valor de H_E un 5% mayor que YNP, mientras que el estimado del tamaño efectivo de YNP es de más del doble que el de WCNP (Tabla 3.2). En el caso de las especies asiáticas, el muntjac negro (HWCH), y el oryx árabe (MNWSA), presentaron tamaños efectivos actuales grandes junto con valores de H_E altos (Fig. 3.6). Es interesante que esto ocurrió aún cuando sus tamaños censales son reducidos (el muntjac

negro, $N_{census}=45$, y el oryx árabe $N_{census}=200$). Tales discrepancias entre H_E y el tamaño efectivo y censal tienen explicación. El tamaño efectivo no sólo refleja la cantidad de variación genética actual de la población, sino también se encuentra influenciado por los procesos históricos que dieron origen a las poblaciones. En el caso del borrego cimarrón, las poblaciones con tamaños efectivos pequeños han estado bajo fuertes reducciones poblacionales, tanto históricas como recientes. En este sentido, después de un cuello de botella la heterocigosis puede ser restaurada relativamente rápido si los apareamientos son aleatorios y se mantiene un tamaño censal grande (Hedrick 2011), mientras que el tamaño efectivo puede tardar más tiempo en recuperarse (Lande 1988, Charlesworth 2009). En el caso de los bisontes, la diferencia en el tamaño efectivo de YNP se relaciona con el hecho de que esta población mantuvo individuos nativos que preservaron variación genética ancestral, lo que produjo tiempos de coalescencia más profundos y en consecuencia un tamaño efectivo relativamente alto. Finalmente, el muntjac negro y el oryx árabe mostraron niveles altos de diversidad y tamaño efectivo (Tabla 3.2) a pesar de que son poblaciones cerradas y aisladas (Ni *et al.* 2009; Arif *et al.* 2010). Sin embargo, hay que considerar que ambas poblaciones han sido fundadas muy recientemente (el muntjac negro 16 años y el oryx árabe 21 años, al momento del estudio; Wu y Fang 2005; www.arabian-oryx.gov.sa) por lo que no ha pasado suficiente tiempo para que se erosione la variación genética. Debido a este factor los tamaños efectivos pueden ser más altos que el tamaño censal (Charlesworth 2009).

Es necesario mencionar que hay dos factores que pueden sesgar los estimados de tamaño efectivo: el flujo génico con otras poblaciones no muestreadas y la antigüedad del tamaño efectivo ancestral. Por una parte, el flujo genético con otras poblaciones puede llevar a una sobreestimación del tamaño efectivo debido a que el modelo de

MSVAR asume que la muestra proviene de una población cerrada (Beaumont 1999; Storz y Beaumont 2002). Por otra parte, Schwartz *et al.* (1999), y Beaumont (2003), mencionan que en escalas de tiempo largas los tamaños efectivos estimados a partir de datos genéticos, pueden aproximarse al tamaño efectivo global de toda la especie, lo que produce tamaños efectivos ancestrales (N_{stlb}) muy grandes y muy distintos de los actuales (N_{cmt}).

El tiempo de cambio del tamaño efectivo

Se ha considerado que la colonización europea de América tuvo un impacto decisivo en las poblaciones de borrego cimarrón (Buechner 1960). Sin embargo, los estimados de Tfa sugieren que eventos previos a los asentamientos europeos también pudieron afectar a las poblaciones de borrego cimarrón (Fig. 3.7, Tabla 3.2). Durante el Holoceno ocurrieron cambios climáticos que modificaron el tipo de vegetación, así como la disponibilidad de agua en Norteamérica (Woodhouse y Overpeck 1998; Gray *et al.* 2003; Booth *et al.* 2005; Lyman 2009). A pesar de que los registros climáticos sugieren una expansión del hábitat de los artiodáctilos americanos durante el Holoceno tardío (Byers y Broughton 2004), los datos arqueológicos y paleontológicos indican que a pesar de que las condiciones fueron favorables para los artiodáctilos, las presiones por parte de los nativos americanos causaron fuertes reducciones en las poblaciones de artiodáctilos (Grayson 1991; 2001; Janetski 1997; Byers y Broughton 2004). Esta información es consistente con la fecha obtenida de Tfa , lo que sugiere que la reducción en las poblaciones de borrego cimarrón fue un proceso antiguo y continuo causado por la combinación de las presiones de cacería por parte de los nativos americanos, así como de los cambios climáticos que modificaron la distribución de la vegetación (Lyman 2009).

De manera similar al borrego cimarrón, las sequías del Holoceno tardío y las presiones de la cacería también impactaron a las poblaciones del bisonte (Cannon 2001). El valor de *Tfa* en la población de YNP coincide con el pico máximo de abundancia fósil en esa localidad durante el Holoceno tardío (Cannon 1991, Fig. 3.7). En contraste, las poblaciones de SUH y WCNP mostraron fechas de *Tfa* muy recientes (Fig.3.7). Se ha documentado que las presiones de antropogénicas más fuertes para los bisontes empezaron con los colonizadores europeos hace 550 años, y estas incrementaron hace 150 años con la introducción de los caballos y mejora de las armas de fuego (Flores 1991, Zontek 1995). Por lo tanto, la señal de reducción del tamaño poblacional *Tfa* en los bistontes puede estar asociada a la cacería humana de los últimos siglos. Es interesante que la intensidad de la reducción poblacional superó a la señal causada los eventos del Holoceno tardío. La diferencia observada con la población de YNP puede deberse a que ésta es la única población de que cuenta descendencia directa de individuos que sobrevivieron a la intensa cacería de los colonizadores (Halbert y Deer 2008), de tal manera que el tiempo de cambio corresponde al de los eventos del Holoceno tardío, eventos que también afectaron a las poblaciones de borrego cimarrón.

Booth *et al.* (2005), reportan que las sequías durante el Holoceno tardío, no sólo afectaron al continente americano, sino que también afectaron áreas subtropicales en el hemisferio norte de todos los continentes. Ésto sugiere que tales eventos también afectaron a las poblaciones de artiodáctilos en el norte de Asia, incluyendo al muntjac negro (HWCH), lo cual coincide con su valor estimado de *Tfa*. Finalmente, los valores de *Tfa* del oryx árabe (MNWSA) corresponden al evento climático conocido como Younger Dryas, que tuvo lugar hace 11,000 años (Berger 1990, Fig.3.7). Tal evento se caracterizó

por un fuerte aumento en la aridez que causó contracciones en la distribución de las plantas herbáceas del suroeste asiático (Grayson 2001), lo que pudo afectar a las poblaciones del oryx árabe.

Conclusiones

- a) La población de borrego cimarrón de Isla Tiburón sufrió de un fuerte cuello de botella genético.
- b) A pesar de las condiciones favorables que permitieron mantener niveles relativamente altos de diversidad genética en Isla Tiburón, no es recomendable usar esta población como única fuente para fundar o reintroducir poblaciones.
- c) Tanto como las actividades humanas como los eventos climáticos pasados han influenciado las dinámicas demográficas de los artiodáctilos incluidos en este estudio.
- d) El uso del tamaño efectivo permite conocer el comportamiento a futuro de la diversidad genética y por ello resulta útil para el diseño de estrategias de conservación.

Artículo publicado: “Effective Population Size, Genetic Variation, and Their Relevance for Conservation: The Bighorn Sheep in Tiburon Island and Comparisons with Managed Artiodactyls”

Effective population size, genetic variation, and their relevance for conservation: The bighorn sheep in Tiburon Island and comparisons with managed artiodactyls

Gasca-Pineda J^a, Cassaigne I^a, Alonso R^b, Eguiarte L E^{a,*}

^aDepartamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, México, D.F. 04510, México. Email: fruns@servidor.unam.mx; telephone: +5255-5622-9006; FAX: +5255-5616-1976.

^bFacultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-483, México, D.F. 04510, México.

* Corresponding author.

Abstract:

The amount of genetic diversity in a finite biological population mostly depends on the interactions among evolutionary forces and the effective population size (N_e) as well as the time since population establishment. Because the N_e estimation helps to explore population demographic history, and allows one to predict the behavior of genetic diversity through time, N_e is a key parameter for the genetic management of small and isolated populations. Here, we explored an N_e -based approach using a bighorn sheep population on Tiburon Island, Mexico (TI) as a model. We estimated the current (N_{crt}) and ancestral stable (N_{stbl}) inbreeding effective population sizes as well as summary statistics to assess genetic diversity and the demographic scenarios that could explain such diversity. Then, we evaluated the feasibility of using TI as a source population for reintroduction programs. We also included data from other bighorn sheep and artiodactyl populations in the analysis to compare their inbreeding effective size estimates. The TI population showed high levels of genetic diversity with respect to other

managed populations. However, our analysis suggested that TI has been under a genetic bottleneck, indicating that using individuals from this population as the only source for reintroduction could lead to a severe genetic diversity reduction. Analyses of the published data did not show a strict correlation between H_E and N_{cmt} estimates. Moreover, we detected that ancient anthropogenic and climatic pressures affected all studied populations. We conclude that the estimation of N_{cmt} and N_{stbl} are informative genetic diversity estimators and should be used in addition to summary statistics for conservation and population management planning.

Keywords:

Conservation genetics; Effective population size; Genetic Variation; Managed populations; Ovis canadensis; Tiburon Island.

Introduction

It has been recognized that management strategies should consider non-genetic factors (e.g., demography) as well as genetic factors (e.g., genetic drift and inbreeding depression) [1,2]. Although it has been argued that non-genetic factors could be more relevant for conservation [3,4], it is accepted that minimizing the loss of genetic variation is a major goal for the management of small populations [1]. Actually, the amount of genetic diversity is considered a parameter for biological conservation [6,7]. In this context, a primary factor responsible for the rate of loss of genetic diversity as well as the rate of increase of inbreeding and genetic drift in a biological population is the effective population size (N_e) [6,8–10]. Therefore, the estimation of N_e has recently become a commonly used parameter in population genetics studies of endangered species [10–14]. Recent methods approximate past changes in N_e , allowing the inference of the population history by estimating changes in historical N_e [15–17]. This makes it feasible to distinguish between historical and recent human-influenced levels of genetic diversity [18,19]. Moreover, the estimation of N_e allows one to predict the behavior of genetic diversity under different demographic scenarios using computational simulations [15,18].

The effective population size (N_e) is defined as the size of a simple Wright-Fisher population that would have the same increase in homozygosity and the same random drift in allele frequencies as in the

actual population considered [8,20–22]. Thus, the definition and estimation of N_e will depend on the feature or genetic property of interest, such as the loss of genetic diversity due to genetic drift or inbreeding [22]. In conservation genetics studies, the most widely used definitions [13,15] are the variance effective population size N_{ev} , which measures the variance of change in gene frequency through time due to genetic drift, and the inbreeding effective population size N_{ei} , which is defined in terms of the probability that two individuals have the same parent (i.e., identical by descent) [14,22]. In other words, N_{ei} measures the loss of expected heterozygosity due to relatedness [12]. Based on these definitions, several methods for estimating N_e have been proposed [8,11–15,22,23]. Nonetheless, it is important to bear in mind that certain methods have particular assumptions or data requirements that could be applied to specific cases [8,12,15–17].

Tiburon Island Bighorn Sheep Population

The bighorn sheep (*Ovis canadensis*) population on Tiburon Island (TI) was founded in 1975 by a single introduction event of 16 individuals (14 ewes and 2 rams) from Punta Chueca Sonora, Mexico [24] (Fig. 1). After this event, the population remained isolated [25–27], and in less than 20 years, the population increased to ~700 individuals [25,27]. This suggests that the TI population has not (at least not yet) shown issues associated with demographic trends, even it has been proposed that the island is near its carrying capacity [25].

Previous studies underlined the importance of retaining genetic diversity in bighorn sheep [28–31], especially when new populations are founded [28,29]. In general, it has been assumed that the number of founders determines the magnitude of the genetic diversity in captive populations [32–34], although there are some exceptions [35]. This raises relevant questions. Did the founders used represent an "adequate" sampling of genetic diversity (i.e., no original genetic bottleneck)? What can the effects on genetic diversity be for using individuals from TI as the only source for founding new populations?

Hedrick *et al.* [36] conducted the first study that explored the genetic diversity and its impact on N_e in TI. They analyzed a limited number of samples (14 individuals, 10 microsatellite loci and 1 MHC locus) and found a lower effective number of founders than the actual number of individuals introduced (14 founders vs. 16 introduced). Recently, another study was published estimating the genetic diversity

of the TI population [37], reporting H_E , H_O and F' statistics.

In this study, we explored an inbreeding effective population-size-based approach to assess the genetic diversity of the TI population, and the demographic scenarios that could explain such diversity, including its foundation and historical events. In addition, we estimated the possible outcome in terms of N_{ef} and H_E of using the TI population as a source of individuals for founding new populations. Finally, to compare our approach, we re-analyzed previously published microsatellite allelic data from seven *O. canadensis* populations and three other artiodactyl species.

Methods

Ethics Statement

The work met the Mexican legal requirements about animal welfare and field work, and was supervised and approved by Dirección General de Vida Silvestre (DGVS), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). The hair sampling was performed in accordance with the Mexican official standard NOM-062-ZOO-1999 (dealing with specific techniques for production, care, and use of laboratory animals). Because hair sampling is a non-invasive technique, it was not necessary to ask for the Institutional SICUAE (Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación) approval.

The sampling in Tiburon Island was conducted under the Seri Government permission, as well as with permission of the owners of "Rincón de la Madera" and "La Mesa" UMAs (Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre; Management Unit for Wildlife Conservation). The special permit for sample collection was issued under Mexican law by DGVS and SEMARNAT.

Population sampling and DNA extraction

Tiburon Island is located in the Gulf of California near the coast of Sonora, Mexico (Fig. 1). The island has an abundant, suitable habitat for bighorn sheep (*Ovis canadensis*), including mountain ranges and typical continental vegetation dominated by deciduous shrubs and succulent cacti [25,38]. Hair samples

were collected from 63 animals captured along the different mountain ranges in Tiburon Island in 2007 (Fig. 1). At the time of capture (October), ewes and rams were split and many different herds were found on the island; thus, the sampling was intended to include as many herds as possible. Hair samples were stored in paper envelopes at -80°C until used. DNA was extracted from 15–25 hairs per individual using a standard Chelex (Chelex 100, Bio-Rad) protocol [39,40].

Microsatellite genotyping and mitochondrial sequencing

To evaluate the nuclear genetic diversity, we used a set of 12 microsatellite loci isolated from *Ovis aries* or *Bos taurus* (Table S1, Supporting Information). These markers had been reported as polymorphic and non-linked. Additionally, some of them had already been used in other genetic diversity studies on bighorn sheep populations [28,36,41]. The Polymerase Chain Reaction (PCR) conditions and primer sequences are reported in Table S1 and Protocol S1 (Supporting Information). In order to reduce possible genotyping errors, 30% of the sample was re-amplified at random for each locus. To detect possible bias due to stutter, allele dropout, and/or null alleles, we used the statistical tests implemented in Micro-checker version 2.2.3 [42]. In addition, the mitochondrial control region was amplified using the primers previously reported by Boyce *et al.* [43]. However, three internal primers were designed to obtain shorter fragments (primer sequences and conditions are reported in Protocols S1, Supporting Information). Fragment assembly and nucleotide quality assessment were carried out with Consed version 1.9 [44,45]. The sequence alignment was done with ClustalX version 2.1 [46].

Population genetics analysis

To estimate the genetic diversity of the microsatellite data of the TI population, we calculated the expected heterozygosity (H_E), observed heterozygosity (H_O), and number of alleles (n_a), as well as its respective standard deviation (S.D.), using Arlequin version 3.5 [46]. Tests for departures from Hardy-Weinberg expectations through the values of F_{IS} statistic (fixation index, [48,49]) were carried out using the Genepop software, version 4.1 [50]; the significance of the estimated F_{IS} value was calculated using the Fisher exact test with 10,000 dememorisation steps, 1,000 batches, and 5,000 iterations per batch. We also used Genepop to test for linkage disequilibrium for each pair of loci using

the Fisher exact test with the same settings reported above. To detect within-island genetic structures, we used STRUCTURE version 2.3 [51] with 500,000 MCMC iterations followed by a burning period of 250,000 steps. As the TI population was founded using individuals from the same location, the admixture model was implemented [52]. The number of clusters (k) varied from 1 to 10 with 30 iterations for each one. Then, to obtain the most likely value of k , the Evanno *et al.* [53] method was applied using Structure Harvester [54]. However, this method excludes the two extreme values of k (in this case, 1 and 10), so all LnP(D) values were plotted against k to visually inspect its behavior and choose the k value with higher likelihood and lower variance. The genetic diversity analysis of the mitochondrial sequences were carried out estimating the number of haplotypes, nucleotide diversity (π), and haplotype diversity using DnaSP version 5.10 [55].

Population size changes and inbreeding effective size (N_{ei}) estimation.

We used the method proposed by Beaumont [56] and Storz and Beaumont [57], which considers the inbreeding effective size definition (N_{ei}) [12]. This method explores hypotheses about the historical signal of demographic expansion or contraction in a closed population through coalescent simulations. Then, each hypothesis is evaluated and the parameters values are estimated via Bayesian inference. We chose this method because it does not require life history data and it only uses a single temporal sampling. Moreover, it allows variation on parameters from one locus to the next one (as different mutation rates), so it is suitable for multilocus microsatellite analyses. In addition, it has been used to estimate population size changes of several species, including lemurs [58] and martens [59]. Finally, this method has demonstrated its robustness for detecting past population size changes [60]. In order to detect signals of a genetic bottleneck, we used MSVAR version 0.4.1 [56] to estimate the ratio of effective population size change r , defined as N_{crt}/N_{stbl} , where N_{crt} is the current inbreeding effective size and N_{stbl} is the ancestral stable inbreeding effective size (i.e., before effective population size change). The r ratio is expressed in \log_{10} . Thus, if r is negative, the population has declined; if $r = 0$, the population has remained stable; and if r is positive, expansion is indicated. MVSVAR version 0.4.1 also estimates θ defined as $2N_{crt}\mu$, where μ is the mutation rate and tf is the time interval of the inbreeding effective population size change in generations scaled by N_{crt} . The software was run for 2×10^9 steps recording 20,000 points from the posterior distribution. The upper and lower bounds for the parameters θ , r , and tf were (-5, 2), (-5.5, 1.5), and (-1, 1), respectively. The limits for r comprised both

population reduction and population expansion. If 95% of the High Density Interval (HDI) of the posterior distribution did not reach zero, we considered this as a signal of reduction on inbreeding effective population size. To quantify the time in years since the population size started to change (Tfa) and the ancestral stable and current inbreeding effective population sizes (hereafter N_{stbl} and N_{crnt}), we used the software MSVAR version 1.3 [57]. The number of steps and recorded points was the same as for MSVAR version 0.4.1, and the mean and variance for N_{stbl} , N_{crnt} and Tfa were (4, 2.25), (4, 2.25), (5, 2.5). The generation time for each species was considered as the mean time for female sexual maturity; all values were taken from AnAge Database [61]. For both programs, five independent runs were performed with different random seeds; for MSVAR 1.3, the mean and the variance for the initial values were varied for each parameter and for each run as recommended by the authors. To check Monte Carlo Markov Chain (MCMC) convergence, the Gelman-Rubin statistic [62] was used as suggested by the software authors, using the coda package [63] implemented in R version 2.12.1 [64]. The last half of each run was combined to produce a 50,000-step output. The analyses of all posterior distributions were carried out using the packages locfit [65] and hdrdce [66]. In order to avoid false population-collapse signals due to genetic structure [16], we analyzed the TI data considering the clustering results obtained with STRUCTURE. The value of each parameter (N_{stbl} , N_{crnt} and Tfa) was reported as the mode of the posterior distribution, using the first and third quartiles as a measure of distribution dispersion.

To test for differences among populations in the N_{crnt} and N_{stbl} estimates, we used the Robust Bayesian Estimate (RBE) [67]. This approach allows a discrete decision about the null value (in this case, that the difference between two estimates is zero). It also provides an estimation of the differences among parameter values, expressed as the mean differences of the marginal posterior distributions including a 95% HDI (High Density Interval). This analysis was performed using the BEST package [67] implemented in R using the default settings.

TI population Approximate Bayesian Computation analysis and scenario simulations

It has been reported that MSVAR is not suitable for inferring very recent population size changes [60], as in the case of the TI foundation. In order to investigate the extent of this bottleneck, we performed an Approximate Bayesian Computation (ABC) analysis. The aim of the ABC analysis was to approximate

the N_{cmt} of the source population (in this case, the Sonora population) that could explain the actual genetic diversity observed in the TI population (Fig. S1, Supporting Information). We simulated demographic scenarios considering different bottleneck intensities. The actual date of TI foundation (32 years at the time of sampling) and the actual number of founders [24] were incorporated in the simulations.

The ABC analysis was performed using the DIY-ABC software, version 1.0.4.37 [68]. The scenarios considered were the following: No bottleneck (Scenario A), with Sonora N_{cmt} fixed at 271; reduced bottleneck (Scenario B), with Sonora $N_{cmt}=385$; strong bottleneck (Scenario C) using Sonora $N_{cmt}=500$; and severe bottleneck (Scenario D) at Sonora $N_{cmt}=918$ (for details, see Fig. S1, Supporting Information). The parameters for the ABC analysis used were Tfa , N_{stbl} and N_{cmt} estimates obtained from MSVAR. Additionally, we used the actual time of foundation (approximated at 15 generations ago) as well as the actual number of founders (16 individuals [24]) (Fig. S1, Supporting Information). The molecular markers simulated for the ABC analysis correspond to 12 autosomal microsatellite loci with a mean mutation rate (previously obtained with MSVAR) of 3.5×10^{-4} and a mean P coefficient of 0.22 (to avoid a strict stepwise mutation model). All loci had a 2 bp motif tandem repeat varying in range from of 20 to 40 bp in length. All summary statistics available were calculated and each scenario had 4 million simulations, from which 0.1% was used for parameter estimation. The scenario selection was carried out using the statistical tests implemented by the software.

In addition, to infer the possible impact on the genetic diversity using TI as a source of individuals for founding new populations, we simulated the possible outcome if new populations were founded from the TI population using 8, 16, 32 and 64 individuals (Fig. S1, Supporting Information). The simulations considered that founded populations had an instant growth to an N_{cmt} equal to that estimated for TI. One thousand simulations were performed for each simulated population, and the analyses of the data sets were performed with Genepop using a Perl script (available upon request). The parameters recorded were H_O , H_E , and n_a . To evaluate the effects on N_{cmt} on the simulated populations, one data set was selected at random and was analyzed using MSVAR version 1.3 using the settings reported above. All graphics and statistical analysis were performed with R.

Re-analyses of managed artiodactyl populations from previously published data

In order to compare the N_{er} -based approach with other populations and species, we re-analyzed seven populations of bighorn sheep (Table 1): four populations from Oregon, USA (HMO, LGO, SMO, JDO; for details see Table 1); one population from Nevada, USA (SRN) (Californian bighorn sheep, *O.c. californiana*); one population from New Mexico, USA (RRNM) (the desert sheep, *O.c. mexicana*); and one from Alberta, Canada (SRA) (the mountain sheep, *O.c. canadensis*) [29,30]. We also included data from three USA bison (*Bison bison*) populations [69]: one population from Yellowstone National Park (YNP), founded with native members of the locality and from private herds; and one population each from Wind Cave National Park (WCNP) and Sully's Hill National Game Preserve (SUH), mainly founded from private herds and zoos. We chose these bison populations because they have similar genetic diversity values and allele numbers but different population sizes, thus representing a good opportunity to investigate the relationship among H_E , census size, and N_{cmt} (Table 1). In order to compare species with different habitats and distribution, we included a population from another member of the Bovidae family, the Arabian oryx (*Oryx leucoryx*), from a protected area in Saudi Arabia [70] and from a captive population from China of the black muntjac (*Muntiacus crinifrons*) of the Cervidae [71] (Table 1). The N_{cmt} estimation for all data sets was carried out with MSVAR using the scheme previously described for the TI population.

Results

TI population genetic diversity and structure

We found 40 alleles for the 12 microsatellite loci analyzed. The number of alleles ranged from 2 to 7, with an average of 3.33 (S.D. 1.435) (details for each marker can be found in Tables S2 and S3, Supporting Information). In general, the number of alleles per locus was lower than previously reported for *O. canadensis* [30,41] but higher than those reported by Hedrick *et al.* [36] for the same population (see Discussion). The Micro-checker analysis showed the presence of null alleles in locus *OarFCB266*. However, this locus was kept for future analysis because our simulations showed that a genetic bottleneck, like the one that occurred in the TI foundation, could generate an excess of homozygotes that could lead to a false null allele signal (see *TI population ABC analysis* section). The overall values of H_E and H_O were 0.501 (S.D. 0.155) and 0.472 (S.D. 0.159) (Table 2). There were notable differences

among loci; for example, *MAF48* showed $H_E=0.238$ with 2 alleles, while *BM848* had $H_E= 0.738$ with 7 alleles (Table S2, Supporting Information). Although positive and negative values of F_{IS} were obtained at different loci (Table S2, Supporting Information), only *OarFCB266* (in accordance with the null alleles signal) and *BM1818* had significant values ($F_{IS}=0.3629$, $p=0.011$ and $F_{IS}=-0.0016$, $p=0.044$, respectively). The overall locus analyses showed a slight, but significant, positive F_{IS} value of 0.058, indicating a departure from H-W proportions for heterozygote deficit ($p=0.008$). Tests for linkage disequilibrium showed that 7 of 66 tests had a significant value ($p < 0.05$). It is worth mentioning that the loci used for this study are located on different chromosomes, except for *OarFCB128* and *BM2113*, which are located in chromosome 2 (but have a distance > 250 cM). However, these loci did not show significant linkage values. We interpret this result as a signal of a population bottleneck, as linkage disequilibrium can be associated with population size reduction and genetic drift [72]. The STRUCTURE analyses recorded the highest posterior probability at $k=1$; hence, the TI population was considered as a single population for the MSVAR runs.

The TI population showed strong signals of a past genetic bottleneck, as the MSVAR r estimate was -2.192, while the estimates of the current (N_{cmt}) and ancestral stables (N_{stbl}) were 271 (145–436, 1st–3rd quartiles) and 10,522 (6,237–20,941, 1st–3rd quartiles) individuals. Nevertheless, the date of the event of population decrease did not correspond to the TI foundation, as the *Tfa* estimate was 3,155 (1,517–6,123, 1st–3rd quartiles) years ago (Table 2).

Mitochondrial genetic diversity

We recovered the two TI haplotypes previously reported for the species in Genbank (Accession numbers: AY116621, AY116622). The haplotype AY116621 was predominant (present in 97% of the sample). There were 11 segregating sites, the haplotype diversity (H) was 0.125 (S.D. 0.055), and the nucleotide diversity (π) was 0.00249 (S.D. 0.0011).

TI population ABC analysis

The ABC analysis showed that Scenario C (Fig. S1, Supporting Information) had the highest probability, indicating that an N_{cmt} of 500 individuals for the Sonora source population could explain

the genetic diversity observed in the actual TI population. The analysis of the TI-simulated data sets showed an average value of $H_E=0.4897$ (S.D. 0.0139) and $n_a=3.639$ (S.D. 0.3465), while the Sonora-simulated population had $H_E=0.5136$ (S.D. 0.0128) and n_a of 4.168 (S.D. 0.317). In accordance with the real data set, we observed the presence of null alleles in a random sample of 100 simulations taken from the TI-simulated data (analyzed with Micro-checker). A g -test performed against a binomial distribution [73], based on 5% of the random variation, showed that the observed results departed from a stochastic process ($p < 0.005$). This finding suggests that the null allele signal observed in the *OarFCB266* locus in the real TI population could be explained by a deficiency of heterozygotes on this locus. This deficiency could be caused by the population size reduction, due to the TI foundation, more than an artifact of the PCR amplification. As expected, the Sonora-simulated population showed higher diversity (t-test $p=0.0002$) than the TI-simulated population. In the hypothetical populations, we observed a steady decrease in H_E and n_a as the number of founders was reduced (Figure 2A). This tendency can also be observed in the N_{cmt} estimates (Fig. 2B, Tables S4 and S5, Supporting Information).

Current and ancestral stable inbreeding effective sizes and dates of size change of re-analyzed data sets

As shown in Table 2, all populations of bighorn sheep and other species showed signals of population decline. The MSVAR r estimate ranged from -2.24 for WCNP to -4.21 for MNWSA. We observed that the Gelman-Rubin statistic showed that some populations did not reach convergence (SRA, HWCH, YNP, and SUH). Nevertheless, as the 95% HDI of the N_{cmt} and N_{stbl} posterior distributions did not overlap, we take this result as a significant signal of population size change.

The N_{cmt} estimates exhibited differences among species and contrasting values within bighorn sheep and bison populations (Fig. 3, Table 2). The N_{cmt} obtained for bighorn sheep ranged from 37 (12–62, 1st–3rd quartiles) individuals for SMO to 388 (158–585, 1st–3rd quartiles) for SRA (Table 2). In the case of bison, the N_{cmt} values were 45 (12–83, 1st–3rd quartiles), 103 (33–162, 1st–3rd quartiles), and 220 (78–350, 1st–3rd quartiles) for SUH, WCNP, and YNP, respectively. The N_{cmt} estimates for the black muntjac (HWCH) were 487 (195–771, 1st–3rd quartiles) and 361 individuals (163–587, 1st–3rd quartiles) for the Arabian oryx (MNWSA). According to the Robust Bayesian Estimate (RBE) analysis, all paired

comparisons of the N_{crrt} estimates between populations showed significant differences (all comparisons are reported in Table S6, Supporting Information).

The ancestral stable (N_{stbl}) estimates also had large ranges (Table 2, Fig. 3). The *O. canadensis* populations exhibited values from 10,551 (6,339–17,906, 1st–3rd quartiles) for SRA to 56,865 (27,415–123,027, 1st–3rd quartiles) individuals for HMO. The SUH and WCNP bison populations showed 17,853 (11,588–29,512, 1st–3rd quartiles) and 19,006 (11,885–30,690, 1st–3rd quartiles) individuals, and the YNP population showed 24,980 (15,812–40,087, 1st–3rd quartiles) individuals. The estimates for MNWSA and HWCH were 77,821 (24,889–242,103, 1st–3rd quartiles) and 77,357 (48,641–122,744, 1st–3rd quartiles). All paired comparisons of N_{stbl} estimates and their significance are reported in Table S7 (Supporting Information).

The estimates of time of population size change (Tfa) are shown in Figure 3 and Table 2. The *O. canadensis* populations ranged from 1,404 years (500–2518, 1st–3rd quartiles) for SMO to 3,211 years (862–5,728, 1st–3rd quartiles) for RRNM. The bison SUH and WCNP populations showed recent Tfa values (440 years, 140–797, 1st–3rd quartiles and 732 years, 264–1,229, 1st–3rd quartiles), while YNP had 1,803 (664–3,133, 1st–3rd quartiles) years. HWCH showed a similar value to bighorn sheep populations (1,508 years, 610–2,415, 1st–3rd quartiles) while MNWSA was rather ancient (11,837 years, 3,606–24,266, 1st–3rd quartiles). Except for MNWSA, most of the Tfa results were similar and their interquartile intervals overlapped. Even more, some populations presented almost the same Tfa estimate (e.g., TI and RRNM, Table 2, Fig. 4).

Discussion

Genetic diversity and management of TI population

The H_E estimated for TI was lower than the reported free-ranging or wild *O. canadensis* populations (e.g., SRA) but was higher than the estimates for other managed populations [29,30]. Our results differ from those of Hedrick *et al.* [36], as we find higher H_E values (0.501 vs 0.420). However, this difference could be due to the difference in sample size that led to a sub-sampling of alleles and, therefore, a genetic diversity underestimation (we recovered one more allele on two of the same loci

analyzed). Nevertheless, our analyses indicate that the TI population is not free from a genetic bottleneck. The simulations showed that TI suffered a bottleneck that reduced its N_{cmt} to about half of the source population, and that the use of TI as a source for translocation of individuals could lead to a severe N_{cmt} reduction, especially when a low number of founders are used. For example, using 16 founders the genetic diversity loss for H_E was 3% and for N_{cmt} was 25%; meanwhile, using 8 founders we observed a reduction of 8% in H_E , and N_{cmt} was reduced by about 82% (Figs. 2A and 2B, Table S4, Supporting Information). Considering our results, we do not recommend the use of the TI population as the only source for restocking other populations. Instead, we suggest the use of individuals from several sources in order to prevent the reduction of effective size and the consequent diminution of genetic variation [6,9,11,29,30,36].

So, what could explain the apparent success of the TI population and the relatively high levels of genetic diversity? It has been argued that the lack of predators, as well as the suitable habitat, promoted a steady growth of the population [25,70]. However, the demographic growth itself does not ensure the retention of genetic diversity. For example, a demographic increase with a continuous reduction in genetic diversity due to genetic drift and inbreeding was reported in mountain goats (*Oreamnos americanus*) [19]. The authors stated that this could be a consequence of a small N_e caused by the mating system of the species and the isolation of the population [19]. In the case of bighorn sheep, it has been reported that sexual segregation is strongly influenced by the presence of predators [75], and that in their absence, the herds can have a more homogeneous male-female proportion allowing ewes to mate with several males despite the dominance hierarchy [76]. This minimizes the effects on N_e due to an uneven male allelic contribution by polygynous behavior [77,78]. However, no studies have been done on the fine-scale population dynamics of TI; therefore, it is unknown at the present time if different groups of animals may act as isolated herds. In this sense, the estimated F_{IS} could be due not only to TI foundation, but also to the Wahlund effect caused by the social structure of the herds in TI. Another factor promoting high levels of genetic diversity is natural selection. Kaeuffer *et al.* [35] observed that in a single-pair founded mouflon (*Ovis aries*) population, genetic diversity could be influenced by natural selection, thus overtaking the effects of genetic drift. In this sense, it has been recognized that natural selection plays an important role in maintaining genetic diversity in bighorn sheep [28].

Current and ancestral stable inbreeding effective sizes and genetic diversity

In general, we found a positive relationship between H_E and N_{cmt} . However, the results also showed deviations from this pattern (Table 2). For example, for *O. canadensis* populations, the TI population showed an N_{cmt} estimate larger than SRN; however, SRN had a higher H_E than that of TI (Table 2, Table S6, Supporting Information). Similarly, RRNM had a relatively low H_E , but its N_{cmt} was higher than the N_{cmt} for all the populations from Oregon (HMO, LGO, SMO, and JDO) (Table 2, Fig. 2). The H_E reported for the SRA population was ~5% larger than that reported for SRN (Table 2), while the estimated N_{cmt} for SRA was about two times larger than that estimated for SRN (Table S6, Supporting Information). In the case of bison populations [64] (Table 2), the reported H_E for the three populations were similar, but our N_{cmt} estimates were contrasting. The N_{cmt} estimate for YNP is larger than that of WNCP, although WNCP had higher H_E than YNP (Table 2, Table S6, Supporting Information). Instead, YNP has relatively high levels of H_E and N_{cmt} . This could be explained by the fact that the YNP population had a large census size and was founded using native animals. In contrast, SUH showed a considerably low N_{cmt} , even though this population had a H_E of 0.604 (Table 2).

The black muntjac (HWCH) and Arabian oryx (MNWSA) populations had the largest N_{cmt} estimates, yet they have small census sizes, especially the black muntjac. In the case of HWCH, the population was founded from a single wild source [71]; thus, the estimated N_{cmt} could correspond to the source population and not necessarily to the actual captive population. MNWSA is similar; however, since this population was founded using several sources instead of a single source, MNWSA could offer a better representation of the source or original genetic pool. For both populations (HWCH and MNWSA), it is likely that not enough time has passed to decrease the “effective size signal” by drift or inbreeding depression and, consequently, to erode the genetic diversity [3,10].

The contrasting patterns between the H_E and N_{cmt} estimates could be attributed to the fact that genetic variation could be restored more rapidly than the N_{cmt} . In this sense, the introduction of alleles can promote an increase of H_E but not necessarily of N_{cmt} . This could be the case for bighorn populations, such as SRN, SUH and WCNP, that showed relatively high levels of H_E but lower N_{cmt} when compared with other populations. For MNWSA and HWCH, it is clear that the populations could not retain such genetic diversity, so it is imperative to increase the census number of both populations in order to avoid

a future reduction of N_{crrt} and the associated genetic diversity loss.

The differences observed between N_{stbl} and N_{crrt} were of at least one order of magnitude (Fig. 3), suggesting a considerable genetic bottleneck for all species. In the case of the bighorn sheep populations, the TI, RRNM, and SRA N_{stbl} estimates were similar, while the Californian bighorn sheep populations exhibited the largest and most variable estimates of N_{stbl} (Table 2, Fig. 3). The HMO population was founded with individuals from the Williams Lake population in Canada, while LGO and SMO were founded mostly with individuals from HMO [29]. The N_{stbl} estimates for these populations actually may represent the ancestral stable effective size of the Williams Lake population, and the differences observed may be due to the sub-sampling represented by the LGO and SMO populations. On the other hand, the difference observed in JDO and SRN could be explained by the fact that these populations were founded from several different sources that could represent a mixed ancestral genetic pool. The bison populations showed similar N_{stbl} values; however, this was expected considering that bison populations could share the same genetic pool due to translocation history. Nevertheless, the N_{stbl} estimate for each population is relatively small considering the estimates for the reports of the historical size of bison [79]. These results suggest that in the past, bison populations could have remained as relatively small and isolated demes, so local sampling of herds represented the diversity of each deme. Finally, the non-American species had the largest N_{stbl} observed by far, which could indicate that their populations were very large and that they had large, interconnected populations that resulted in larger N_{stbl} estimates.

It is necessary to consider the factors that influence and possibly bias our N_{stbl} estimates: i) the analyzed populations could have historical genetic flow with other populations, and ii) the antiquity of the ancestral stable population size. Historical interconnections with other populations could lead to an N_{stbl} overestimation, as MSVAR assumes that the sample represents a closed population [56,57]. In addition, Schwartz *et al.* [80] and Beaumont [16] stated that, on long time-scales, the estimates of N_e obtained from genetic data (in our study, N_{stbl}) could approach the global N_e for the species, yielding historical N_e estimates very different from actual local census size.

The time of the population size change Tfa, and anthropogenic pressures

The European colonization of the Americas has been considered as one of the most important factors influencing the decline of the bighorn sheep populations [81]. However, our *Tfa* estimates suggested that other factors besides the European settlement could have affected the bighorn sheep populations (Fig. 4, Table 2). It has been reported that the climate changes during the Holocene restricted vegetation cover and water availability [82–86]; however, the climate became less arid in the late Holocene, allowing the artiodactyl populations to grow [86]. Nevertheless, archaeological and paleontological records across North America revealed that, although the environmental conditions were favorable for artiodactyls, the hunting pressures by Native Americans appear to have caused substantial declines in artiodactyl populations [86–89]. The *Tfa* values obtained could be related to an ancient and continuous population decrease driven mostly by human foragers who took advantage of the increased high artiodactyl densities [85].

As in the case of the bighorn sheep populations, the Holocene droughts, as well as hunting pressures, could have influenced the bison populations [90]. For example, the *Tfa* for YNP is in accordance with fossil abundance in the locality, having peaked in the late Holocene [90]. However, more recent *Tfa* values were found in SUH and WCNP (Fig. 4). It has been documented that considerable anthropogenic pressures on bison populations began around 550 years ago and increased 150 years later with the introduction of horses [91,92]. This finding indicates that the SUH and WCNP populations had a strong population-decline signal, primarily driven by hunting in the last centuries, of such magnitude that it overwhelmed the Holocene influence. In contrast, YNP was the only population that had native individuals; thus, its *Tfa* estimate represents the time of population size change of a relict population, while SUH and WCNP estimates relate to more recent anthropogenic pressures.

Booth *et al.* [84] reported that severe droughts at ~4.2 kyr are recorded at multiple mid-latitude and subtropical sites on all other continents of the Northern Hemisphere. This suggests that the Late Holocene climate changes could influence artiodactyls in other continents, including black muntjac. Finally, the MNWSA *Tfa* value corresponds to another important climatic event, the Younger Dryas (11,000 years ago) [93]. This event is characterized by a striking increase of aridity. This caused a retreat of herbaceous plants in Southwest Asia [89] that could have influenced oryx populations. The N_{el} reduction in this species could reflect a severe influence of climatic changes and/or could be partly due to human activities.

Conclusions

The estimation of the effective population size provides additional information about genetic diversity. In this sense, our results showed that past human influences and possibly climatic changes played a major role in demographic trends on the artiodactyls studied here. Moreover, the use of N_{cmt} and N_{stb} estimates allows a glimpse of the possible fate of genetic diversity in the future (for example, the effects of genetic drift or posterior bottlenecks). Thus, the effective size estimation, along with classic summary statistics, allows us to make better decisions for planning management and conservation strategies.

Acknowledgements

All research was carried out at the Instituto de Ecología (UNAM). This paper is part of the doctoral research of the first author at Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, UNAM. We want to thank Dr. Erika Aguirre, M.Sc. Laura Espinosa and M.Sc. Patricia Padilla for their technical assistance in the laboratory. We are grateful to Felipe Rodríguez, UMA Rincón de la Madera, UMA La Mesa, and the Seri Government for their permission to work on Tiburon Island. Also we are grateful to Dr. R.T. Hanlin for his generous help with the English. We thank Dr. M. S. Boyce, Dr. M. Festa-Bianchet, Dr. William Barendse, and three anonymous reviewers for their valuable comments. Finally, we want to thank Dr. Erika Aguirre, M.Sc. Patricia Vélez, M.Sc. Gabriela Castellanos Morales, and Alexander Ochoa for their comments for the improvement of the manuscript.

References

1. Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biol Conserv* 126: 131–140.
2. Boyce MS (2002) Reconciling the small-population and declining-population paradigms. In: Beissinger SR, McCullough DR, editors. *Population viability analysis*. Chicago: The University of Chicago Press. pp. 41–49.
3. Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241: 1455–1460.
4. Caughley G (1994) Directions in conservation biology. *J Anim Ecol* 63: 215–244.
5. Allendorf FW, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Massachusetts: Blackwell Publishing. 642 p.
6. Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) *Introduction to conservation genetics*. Second ed. Cambridge: Cambridge University Press. 618 p.
7. McNeely JA, Miller KR, Reid WV, Mittermeier RA, Werner TB (1990) *Conserving the*

world's biological diversity. Gland: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. 193 p.

8. Ewens WJ (1990) The minimum viable population size as a genetic and a demographic concept. In: Adams J, Lam DA, Hermalin AI, Smouse PE, editors. Convergent issues in genetics and demography. Oxford: Oxford University Press. pp. 307–316.
9. Ballou JD, Foose TJ (1996) Demographic and genetic management of captive populations. In: Kleinman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editors. Wild mammals in captivity. Chicago: University of Chicago Press. pp. 263–283.
10. Charlesworth B (2009) Fundamental concepts in genetics: effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nat Rev Genet* 10: 195–205.
11. Waples RS (2002) Definition and estimation of effective population size in the conservation of endangered species. In: Beissinger SR, McCullough DR, editors. Population viability analysis. Chicago: The University of Chicago Press. pp. 147–168.
12. Leberg P (2005) Genetic approaches for estimating the effective size of populations. *J Wildlife Manage* 69: 1335–1399.
13. Luikart G, Ryman N, Tallmon D, Schwartz M, Allendorf F (2010) Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conserv Genet* 11: 355–373.
14. Palstra FP, Fraser DJ (2012) Effective/census population size ratio estimation: a compendium and appraisal. *Ecol Evol* 2: 2357–2365.
15. Wang J (2005) Estimation of effective population sizes from data on genetic markers. *Phil Trans R Soc B* 360: 1395–1409.
16. Beaumont MA (2003) Estimation of population growth or decline in genetically monitored populations. *Genetics* 164: 1139–1160.
17. Tallmon DA, Luikart G, Beaumont MA (2004) Comparative evaluation of a new effective population size estimator based on approximate Bayesian computation. *Genetics* 167: 977–988.
18. Corti P, Shafer AB, Coltman DW, Festa-Bianchet M (2011) Past bottlenecks and current population fragmentation of endangered huemul deer (*Hippocamelus bisulcus*): implications for preservation of genetic diversity. *Conserv Genet* 12: 119–128.
19. Ortego J, Yannic G, Shafer A, Mainguy J, Festa-Bianchet M, et al. (2011) Temporal dynamics of genetic variability in a mountain goat (*Oreamnos americanus*) population. *Mol Ecol* 20: 1601–1611.
20. Fisher RA (1930) The genetical theory of natural selection. Oxford: Oxford University Press.
21. Wright S (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97–159.
22. Crow, JF & Kimura, M (1970) An introduction to population genetics theory. New York: Harper and Row. 591 p.
23. Caballero A (1994) Developments in the prediction of effective population size. *Heredity* 73: 657–679.
24. Montoya B, Gates G (1975) Bighorn capture and transplant in Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 19: 28–32.
25. Colchero F, Medellín RA, Clark JS, Lee R, Katul GG (2009) Predicting population survival under future climate change: density dependence, drought and extraction in an insular bighorn sheep. *J Anim Ecol* 78: 666–673.
26. DeForge JR, Valdez R (1984) Status of investigations of desert bighorn sheep in Sonora, Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 28: 41–43.
27. Lee R, Lopez-Saavedra EE (1993) Helicopter survey of desert bighorn sheep in Sonora, Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 37: 29–32.

28. Gutierrez-Espeleta GA, Hedrick PW, Kalinowski ST, Garrigan D, Boyce WM (2001) Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the result of low MHC variation? *Heredity* 86: 439–450.
29. Whittaker DG, Ostermann SD, Boyce WM (2004) Genetic variability of reintroduced California bighorn sheep in Oregon. *J Wildlife Manage* 68: 850–859.
30. Gutierrez-Espeleta GA, Kalinowski ST, Boyce WM, Hedrick, PW (2000) Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. *Conserv Genet* 1: 3–15.
31. Epps CW, Palsbøll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey RR, McCullough DR (2005) Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecol Lett* 8: 1029–1038.
32. Hedrick PW, Miller ES (1992) Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecol Appl* 2: 30–46.
33. Frankham R (1995) Conservation genetics. *Annu Rev Genet* 29: 305–327.
34. Nichols RA, Bruford MW, Groombridge JJ (2001) Sustaining genetic variation in a small population: evidence from the Mauritius kestrel. *Mol Ecol* 10: 593–602.
35. Kaeuffer R, Coltman DW, Chapuis JL, Pontier D, Réale D (2007). Unexpected heterozygosity in an island mouflon population founded by a single pair of individuals. *Proc R Soc B* 274: 527–533.
36. Hedrick PW, Gutierrez-Espeleta GA, Lee RN (2001) Founder effect in an island population of bighorn sheep. *Mol Ecol* 10: 851–857.
37. Abad-Zavaleta J, Sifuentes-Rincon A, Lafon-Terrazas J, Gutierrez-Alderete E, Gonzalez-Rodriguez JA, *et al.* (2011) Genetic diversity analysis of two desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*) population in México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 14: 171–178.
38. Ezcurra E, Equihua M, Lopez-Portillo J (1987) The desert vegetation of El Pinacate, Sonora, Mexico. *Vegetatio* 71: 49–60.
39. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991) Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506–513.
40. Frantz AC, Schaul M, Pope LC (2004) Estimating population size by genotyping remotely plucked hair: the Eurasian badger. *J Appl Ecol* 41: 985–995.
41. Coltman DW (2005) Testing marker-based estimates of heritability in the wild. *Mol Ecol* 14: 2593–2539.
42. van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4: 535–538.
43. Boyce WM, Ramey RR, Rodwell II TC, Rubin ES, Singer RS (1999). Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. *Mol Ecol* 8: 99–106.
44. Ewing B, Green P (1998) Basecalling of automated sequencer traces using phred. II. error probabilities. *Genome Res* 8: 186–194.
45. Gordon D, Abajian C, Green P (1998) Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Res* 8: 195–202.
46. Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, *et al.* (2007) ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics* 23: 2947–2948.
47. Excoffier LGL, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinformatics Online* 1: 47–50.
48. Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395–420.
49. Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358–1370.

50. Rousset F (2008) Genepop'007: a complete re-implementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour* 8: 103–106.
51. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
52. Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567–1587.
53. Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611–2620.
54. Earl DA, von Holdt BM (2011) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4: 359–361.
55. Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451–1452.
56. Beaumont MA (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153: 2013–2029.
57. Storz JF, Beaumont MA (2002) Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution* 56: 154–166.
58. Olivieri GL, Sousa V, Chikhi L, Radespiel U (2008). From genetic diversity and structure to conservation: genetic signature of recent population declines in three mouse lemur species (*Microcebus spp*). *Biol Conserv* 141: 1257–1271.
59. Tucker JM, Schwartz MK, Truex RL, Pilgrim KL, Allendorf FW (2012). Historical and contemporary DNA indicate fisher decline and isolation occurred prior to the European settlement of California. *PloS one* 7: e52803.
60. Girod C, Vitalis R, Leblois R, Fréville H (2011) Inferring population decline and expansion from microsatellite data: a simulation-based evaluation of the Msvar method. *Genetics* 188: 165–179.
61. de Magalhaes JP, Costa J (2009) A database of vertebrate longevity records and their relation to other life-history traits. *J Evol Biol* 22:1770–1774.
62. Gelman A, Rubin DB (1992) Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat Sci* 7: 457–511.
63. Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K (2006) CODA: convergence diagnosis and output analysis for MCMC. *R News* 6: 7–11.
64. R Development Core Team (2012) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available: <http://www.R-project.org/>.
65. Loader C (2012) locfit: local regression, likelihood and density estimation. R package version 1.5-8. Available: <http://CRAN.R-project.org/package=locfit>.
66. Hyndman RJ, Einbeck J, Wand M (2010) hdrdce: highest density regions and conditional density estimation. R package version 2.15 Available: <http://CRAN.R-project.org/package=hdrdce>.
67. Kruschke J K (2012) Bayesian estimation supersedes the t test. *J Exp Psychol: Gen Advance online publication*. doi: 10.1037/a0029146.
68. Cornuet JM, Ravigné V, Estoup A (2010) Inference on population history and model checking using DNA sequence and microsatellite data with the software DIYABC (v1.0). *BMC Bioinformatics* 11: 401
69. Halbert ND, Derr JN (2008) Patterns of genetic variation in US federal bison herds. *Mol Ecol* 17: 4963–4977.
70. Arif IA, Khan HA, Shobrak M, Homaidan AAA, Sadoon MA, et al. (2010) Measuring the genetic diversity of Arabian Oryx using microsatellite markers: implication for captive breeding. *Genes Genet Syst* 85: 141–145.

71. Ni XW, Meng K, Wu HL, Zhu GP (2009) Genetic diversity of a captive population of black muntjac revealed by a set of high polymorphism across-species microsatellites. *Anim Biol* 59: 273–281.
72. Hedrick PW (2011) *Genetics of populations*. Fourth ed. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning. 675 p.
73. Kachitvichyanukul V, Schmeiser BW (1988) Binomial random variate generation. *Commun ACM* 31: 216–222.
74. Krausman PR, Shackleton DM (2000) Bighorn sheep. In: Demarais S, Krausman PR, editors. *Ecology and management of large mammals in North America*. New Jersey: Prentice-Hall. pp. 517–544.
75. Mooring MS, Fitzpatrick TA, Benjamin JE, Fraser IC, Nishihira TT, et al. (2003) Sexual segregation in desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*). *Behavior* 140: 183–207.
76. Festa-Bianchet M (1999) Bighorn sheep. In: Wilson DE, Ruff S, editors. *The Smithsonian book of North American mammals*. Washington: The Smithsonian Institution Press. pp. 348–350.
77. Briton J, Nurthen RK, Briscoe DA, Frankham R (1994) Modelling problems in conservation genetics using *Drosophila*: consequences of harems. *Biol Conserv* 69: 267–275.
78. Storz JF, Bhat HR, Kunz TH (2001) Genetic consequences of polygyny and social structure in an Indian fruit bat, *Cynopterus sphinx*. II. Variance in male mating success and effective population size. *Evolution* 55: 1224–1232.
79. McHugh T (1972) *The time of the buffalo*. New Jersey: University of Nebraska Press, Lincoln. 339 p.
80. Schwartz MK, Tallmon DA, Luikart G (1999) DNA-based methods for estimating population size: many methods, much potential, unknown utility. *Anim Conserv* 2: 321–323.
81. Buechner HK (1960) The bighorn sheep of the United States: its past, present and future. *Wildlife Monogr* 4: 3–174.
82. Woodhouse CA, Overpeck JT (1998) 2000 years of drought variability in the central United States. *B Am Meteorol Soc* 79: 2693–2714.
83. Gray ST, Betancourt JL, Fastie CL, Jackson ST (2003) Patterns and sources of multidecadal oscillations in drought-sensitive tree-ring records from the central and southern Rocky Mountains. *Geophys Res Lett* 30: 1316–1319.
84. Booth RK, Jackson ST, Forman SL, Kutzbach JE, Bettis III, et al. (2005) A severe centennial-scale drought in mid-continental North America 4200 years ago and apparent global linkages. *The Holocene* 15: 321–328.
85. Lyman RL (2009) The Holocene history of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) in eastern Washington state, northwestern USA. *The Holocene* 19: 143–150.
86. Byers DA, Broughton JM (2004) Holocene environmental change, artiodactyl abundances, and human hunting strategies in the great basin. *Am Antiquity* 69: 235–255.
87. Janetski JC (1997) Fremont hunting and resource intensification in the Eastern Great Basin. *J Archaeol Sci* 24: 1075–1088.
88. Grayson DK (1991) Late Pleistocene extinctions in North America: taxonomy, chronology, and explanations. *J World Prehist* 5: 193–232.
89. Grayson DK (2001) Did human hunting cause mass extinction? *Science* 294: 1459.
90. Cannon KP (2001) What the past can provide: contribution of prehistoric bison studies to modern bison management. *Great Plains Res* 11: 145–174.
91. Flores D (1991) Bison ecology and bison diplomacy: the southern plains from 1800 to 1850. *J Am Hist* 78: 465–485.

92. Zontek K (1995) Hunt, capture, raise, increase: the people who saved the bison. *Great Plains Quart* 15: 133–149.
93. Berger WH (1990) The Younger Dryas cold spell: a quest for causes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol* 89: 219–237.
94. Moore AMT, Hillman GC (1992) The Pleistocene to Holocene transition and human economy in Southwest Asia: the impact of the Younger Dryas. *Am Antiquity* 57: 482–494.

Figure Captions

Figure 1. Map showing the localization of Tiburon Island on the Gulf of California, Mexico.

Figure 2. Plots of simulations of the loss of genetic diversity and current inbreeding effective population size. A) Plot of the loss of expected heterozygosity (H_E) and mean number of alleles (N_a) for the simulated scenarios. Number of founders correspond to population founded from TI-simulated population. Error bars correspond to standard error using the number of loci as sample size. B) Change in the inbreeding effective size (N_{crrnt}) of TI- and Sonora-simulated populations, as well as for the new one founded from TI. Error bars represent first and third quartiles of the parameter distribution.

Figure 3. Estimates for the ancestral stable (N_{stlb}) and current (N_{crrnt}) inbreeding effective sizes. Dots correspond to the modal value of parameter distributions obtained with MSVAR 1.3. Error bars represent the first and third quartiles.

Figure 4. Plot of the time of population size change (Tfa). Solid line corresponds to Younger Dryas (11,000 years ago). The dashed line corresponds to late Holocene droughts (4,200 years ago), the dot-dash line corresponds to the first hunting pressures for bison (550 years ago) and the dotted line corresponds to the introduction of horses to North America (150 years ago). Dots correspond to the modal value of the parameter distribution obtained with MSVAR 1.3, and error bars correspond to first and third quartiles.

Supporting Information Figures Captions

Figure S1. Schematic representation of the ABC-analysis scenarios. From past to present, the simulations are as follows: Begin with an ancestral population that had a constant effective size (N_{stlb}); the population had a size change at an exponential rate during the Tfa years (in this case, scaled to generations). Fifteen generations before the present, the TI foundation occurred, represented as the continental (Sonora) and TI population split. Finally, in the present (N_{crrnt}), 63 samples were taken from TI. We considered the actual information on the TI foundation (16 founders, 30 years ago), and parameters N_{stlb} , N_{crrnt} and Tfa were obtained from the MSVAR analysis. To determinate the most likely N_{crrnt} of the Sonora source population, four scenarios were considered: (A) no genetic bottleneck fixing size at 271 individuals; (B) reduced considering 385 individuals; (C) strong 500; and (D) severe bottleneck 918. Finally, in order to predict the effects on genetic diversity of using TI as source for founding new populations, we simulated the outcome for 64, 32, 16, and 8 founders using the most likely scenario obtained with the ABC-analysis.

Tables

Table 1. Species, locality, sample size (N) and number of loci (L), estimated census size (N_{census}), observations regarding each population, and reference.

Species	Locality	N/L	N_{census}	Observations	Reference
<i>Ovis canadensis mexicana</i>	Tiburón Island, Sonora, México (TI)	63/12	650–700	Sixteen founders from a single source. Continuous population growth.	This work, 24
<i>Ovis canadensis mexicana</i>	Red Rock Refuge, New Mexico, USA (RRNM)	25/10	100–200	Captive herd derived from one source, San Andres Mt. Used as a translocation stock.	30
<i>Ovis canadensis canadensis</i>	Sheep River, Alberta, Canada (SRA)	55/10	Local population about 60–150	Historically large population, frequent contact with other herds. Past declines due to epidemics.	30
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Hart Mountain, Oregon, USA (HMO)	16/11	270	Twenty founders from a single source (Williams Lake), decline of the population. Isolation since establishment.	29
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Leslie Gulch, Oregon, USA (LGO)	23/11	125	Seventeen founders from Hart Mt, posterior introduction of 72 individuals from Hart Mt or Steens Mt.	29
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Steens Mountain, Oregon, USA (SMO)	18/11	185	Multiple releases from Hart Mt (152 in total), decline of the population.	29
<i>Ovis canadensis californiana</i>	John Day River, Oregon, USA (JDO)	19/11	310	Multiple introductions, most from Hart Mt (50 in total).	29
<i>Ovis canadensis californiana</i>	Santa Rosa Mountains, Nevada, USA (SRN)	31/11	295	Introductions from multiple sources (53 in total).	29
<i>Bison bison</i>	Sully's Hill National Game Preserve, North Dakota, USA (SUH)	29/14*	35	Nineteen founders from five sources. Species under severe bottleneck.	69
<i>Bison bison</i>	Wind Cave National Park, South Dakota, USA (WCNP)	345/14*	350	Twenty founders from two sources (14 from a zoo and 6 from YNP).	69
<i>Bison bison</i>	Yellowstone National Park, Wyoming, USA (YNP)	505/14*	3,000	Fifty-one founders from three sources (30 indigenous, 21 from two private herds).	69
<i>Oryx leucoryx</i>	Mahazat As-Sayd Protected Area, Saudi Arabia (MNWSA)	24/7	200	Twenty-one samples taken from a protected area, founded from seven distinct groups. Three samples taken from a semi-captive population.	70
<i>Muntiacus crinifrons</i>	Hefei Wild Animal Park, China (HWCH)	14/11	45	Lower diversity than in the wild. Population founded from a single wild source.	71

*Fourteen loci selected by the authors in the original study due to the large number of alleles.

Table 2. Values of H_E , n_a , the ratio of population size change (r) expressed in \log_{10} , current (N_{cmt}), ancestral stable (N_{stbl}) inbreeding effective population size, and time in years to population size change (Tfa). All obtained with MSVAR 1.3. The numbers in parentheses correspond to the first and third quartiles of the parameter distribution.

		H_E/n_a (S.D.)	r	N_{cmt}	N_{stbl}	Tfa
<i>O.c. mexicana</i>	TI	0.501 (0.155)/ 3.33 (1.435)	-2.192	271 (145–436)	10,522 (6,237–20,941)	3,155 (1,517–6,123)
<i>O.c. mexicana</i>	RRNM	0.36 (0.268)/ 2.4 (0.843)	-2.817	191 (63–289)	12,148 (6,823–26,792)	3,211 (862–5,728)
<i>O.c. canadensis</i>	SRA	0.596 (0.153)/ 4.4 (1.173)	*	388 (158–585)	10,551 (6,339–17,906)	1,857 (723–3,457)
<i>O.c. californiana</i>	HMO	0.35 (0.262)/ 2.22 (1.09)	-2.774	62 (25–101)	56,865 (27,415–123,027)	2,951 (1,196–5,202)
<i>O.c. californiana</i>	LGO	0.34 (0.220)/ 2.33 (0.71)	-3.135	42 (15–72)	43,822 (21,379–86,497)	1,508 (564–2,756)
<i>O.c. californiana</i>	SMO	0.32 (0.254)/ 2.22 (0.97)	-3.287	37 (12–62)	46,206 (24,099–93,111)	1,404 (500–2,518)
<i>O.c. californiana</i>	JDO	0.39 (0.232)/ 2.44 (0.88)	-2.892	57 (22–99)	39,210 (20,464–74,645)	1,938 (725–3,188)
<i>O.c. californiana</i>	SRN	0.57 (0.211)/ 3.78 (1.39)	-2.504	102 (34–179)	25,194 (14,622–44,055)	1,409 (478–2,477)
<i>B. bison</i>	SUH	0.604 (0.137)/4 (1.35)	*	45 (12–83)	17,853 (11,588–29,512)	440 (140–797)
<i>B. bison</i>	WCNP	0.650 (0.141)/ 4.92 (1.859)	-2.240	103 (33–162)	19,006 (11,885–30,690)	732 (264–1,229)
<i>B. bison</i>	YNP	0.619 (0.120)/ 4.17 (1.13)	*	220 (78–350)	24,980 (15,812–40,087)	1,803 (664–3,133)
<i>O. leucoryx</i>	MNWSA	0.565 (0.078)/ 3 (0.816)	-4.210	361 (163–587)	77,821 (24,889–242,103)	11,837 (3,606–24,266)
<i>M. cinifrons</i>	HWCH	0.675 (0.137)/ 5.3 (1.368)	*	487 (195–771)	77,357 (48,641–122,744)	1,508 (610–2,415)

Figures

Figure 1

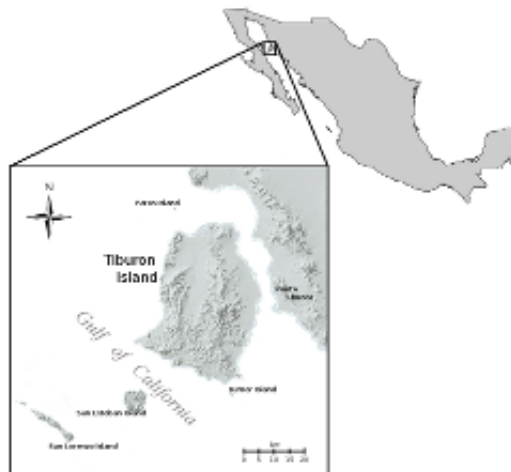


Figure 2

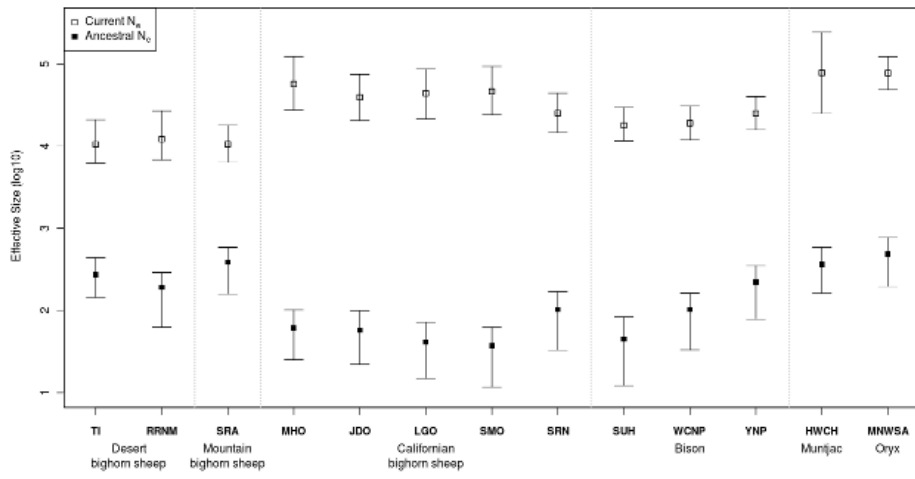


Figure 3

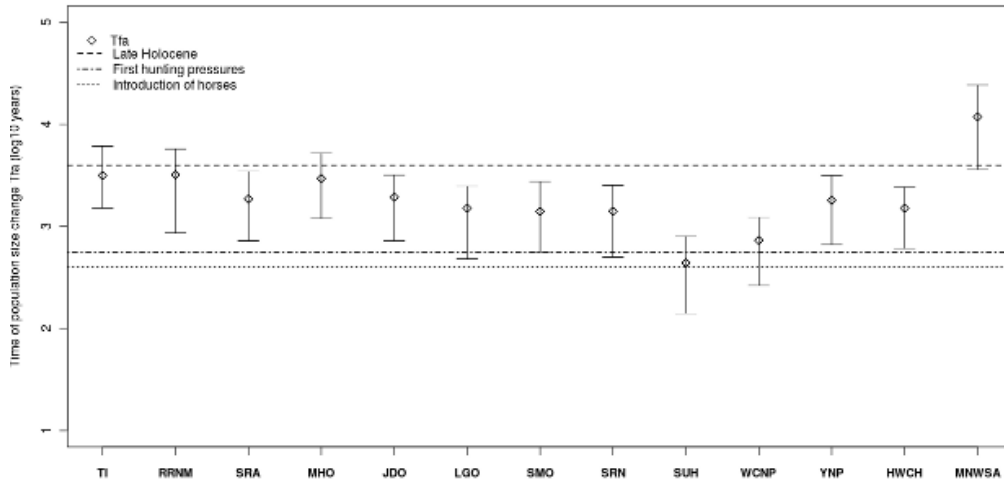
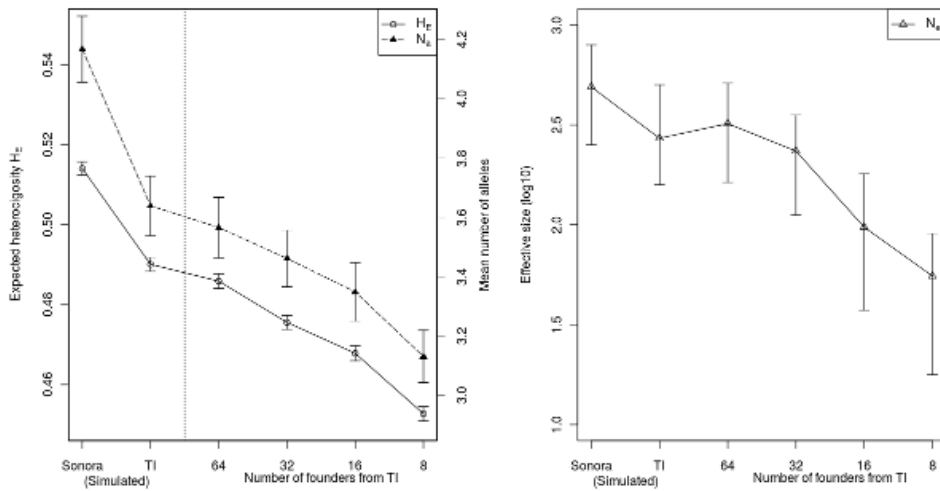


Figure 4



Segunda parte: Diversidad genética, manejo y conservación de *O. canadensis* en México

El manejo y aprovechamiento del borrego cimarrón en México

El borrego cimarrón es una especie de suma importancia económica en México. Se ha estimado que a partir de la autorización de su cacería en 1996, se recaudaron aproximadamente seis millones de dólares por la subasta de permisos de cacería (Lee 2009), ésto sin considerar los beneficios económicos secundarios del turismo cinegético (como transporte, alojamiento, etc.). Debido a ello, la conservación del borrego cimarrón en México tiene además de un interés ecológico y cultural, un fuerte interés económico. En consecuencia, se han llevado a cabo múltiples esfuerzos para recuperar a las poblaciones del borrego cimarrón (Medellín *et al.* 2005; Brigham *et al.* 2007; Lee 2009), incluyendo la regulación de la cacería y la protección legal, así como la fundación numerosos ranchos o encierros, llamados de manera formal UMAs. En las UMAs, el borrego se reproduce con fines cinegéticos y de reintroducción. Estas actividades se han desarrollado principalmente en Sonora, pero también en los estados de Coahuila, Chihuahua y Nuevo León (Brigham *et al.* 2007). En estos encierros los borregos se mantienen confinados, y en su mayoría fueron fundados con individuos capturados en las cercanías o bien con individuos de otros ranchos o extraídos de Isla Tiburón (Brigham *et al.* 2007; Rodríguez-Rodríguez *et al.* en prensa). A diferencia de Sonora, en Baja California Sur las unidades de aprovechamiento comprenden áreas del Estado en donde se mantienen a los borregos en vida libre, de hecho la UMA “Bienes Comunales Lic. Alfredo Bonfíl” se encuentra dentro de la Reserva de la Biósfera del Vizcaíno. Ya que las unidades de manejo no se encuentran confinadas, las poblaciones aprovechadas de borrego en

Baja California Sur pueden mantener contacto entre ellas y se mantienen en un estado silvestre. En el caso del Baja California Norte, la protección del borrego cimarrón tiene carácter permanente y no se permite su aprovechamiento (Lee 2009). Como se mencionó anteriormente, además de los encierros, en México se han llevado dos eventos de introducción del borrego cimarrón a dos islas del Golfo de California: Isla Tiburón en Sonora, e Isla del Carmen en el Estado de BCS (Figs. 3.2 y 3.8). La fundación de estas poblaciones tuvo como objetivo la reproducción y aprovechamiento, pero también la reintroducción de individuos a su distribución original (Brigham *et al.* 2007).

A pesar de que se ha sugerido que las poblaciones de borrego cimarrón en México se encuentran estables o en crecimiento (Lee 2009), los antecedentes en conservación y manejo en la especie han demostrado la necesidad de evaluar la diversidad genética en sus poblaciones. Además, el borrego cimarrón en México representa un modelo de estudio interesante, debido a que se cuentan con poblaciones silvestres, poblaciones de cautiverio y poblaciones insulares que si bien están confinadas, se encuentran en estado de vida libre (Álvarez-Romero y Medellín, 2005). Tales características permiten por una parte evaluar la variación genética de las poblaciones de cautiverio, y por otra delimitar unidades de manejo en la especie. Lo anterior con el fin de atenuar o prevenir problemas de sobrevivencia asociados con bajos niveles de variación genética (como depresión por endogamia y deriva génica). También se puede comparar las poblaciones silvestres con los encierros para conocer los efectos del manejo del borrego cimarrón en su diversidad genética. Esta información permitirá un mejor diseño de las estrategias de manejo y la conservación de la especie en México.

Las herramientas de análisis actuales en genética de poblaciones permiten la

estimación de parámetros que aproximan la cantidad de variación genética en el espacio y el tiempo. Por ejemplo, es posible conocer cambios históricos en los tamaños efectivos, estimar tiempos de divergencia entre poblaciones así como generar y falsear hipótesis acerca de la historia natural e influencias antropogénicas en la especie (Luikart *et al.* 2010). En esta sección se llevó a cabo un análisis de genética de poblaciones del borrego cimarrón en México, considerando el manejo y la historia natural de la especie. Se estimaron parámetros de diversidad genética, endogamia, estructura genética, así como tamaños efectivos actuales e históricos. Los resultados mostraron diferencias en la diversidad genética y fuerte estructura entre las poblaciones de los Estados de Sonora y BCS. Asimismo, se encontró que la historia natural de la especie, además del manejo, tuvieron un fuerte impacto en los niveles de variación genética del borrego cimarrón.

Objetivos

- Conocer la magnitud y distribución de la variación genética en poblaciones silvestres y de cautiverio en Sonora y Baja California Sur.
- Evaluar el impacto de las prácticas de manejo en cantidad de diversidad genética en el borrego cimarrón en México.
- Conocer los niveles de diferenciación genética dentro y entre las poblaciones de Sonora y BCS.
- Estimar los niveles de endogamia presentes en las poblaciones de cautiverio de Sonora.
- Aproximar el tiempo de divergencia de las poblaciones de Sonora y BCS.
- Estimar los tamaños efectivos actuales de ambos Estados, así como posibles cambios históricos que indiquen cuellos de botella demográficos.

Método

Obtención de muestras y amplificación de marcadores moleculares

Se recolectaron 210 muestras de mandíbulas, pelo y tejido provenientes de 23 localidades de Sonora y Baja California Sur (Tabla 3.3, Fig. 3.8). Debido a que la veda impuesta en Baja California Norte impide su manejo (Lee 2009), no se cuenta con muestras de este Estado. Adicionalmente, se incluyeron 63 muestras analizadas en Gasca-Pineda *et al.* (2013), provenientes de Isla Tiburón, así como 25 muestras analizadas en Durán-Álvarez (2013) provenientes del “Rancho Pilares” localizado en Coahuila. Las muestras de Sonora comprenden 16 localidades silvestres denominadas Son_W y 11 encierros, denominados Son_Cap. Para este estudio, la población de Isla Tiburón se denominó Son_IT (Tabla 3.3). Cabe señalar que aunque el Rancho Pilares se encuentra en Coahuila, los individuos fundadores de esta localidad provienen de Sonora, por lo que esta muestra se integró como un encierro más a Son_Cap. Las muestras provenientes de Baja California Sur (BCS), fueron colectadas en 8 localidades distribuidas en tres cadenas montañosas: Las Vírgenes, La Giganta y El Mechudo (Fig. 3.8, Tabla 3.3). Las localidades se agruparon considerando la cadena montañosa de origen y se demonimaron por su latitud como BCS_N para la sierra de Las Vírgenes, BCS_C para La Giganta, y BCS_S para El Mechudo. La población de Isla del Carmen fue denominada como BCS_IC (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Procedencia de la muestras analizadas en el presente estudio.

Estado	Agrupación/Clave	Localidades	N
Sonora	Sonora Silvestre Son_W	Ejido Noche Buena, Ejido Desemboque, Puerto Posadas; El Sacrificio, Sierra Pinta, Ejido Hueverachi, Las Norias, Punta de Cirios, La Candelaria, Ejido Manuel Ávila Camacho, San Emeterio, Año Nuevo, Sierra el Viejo, Sierra el Yaqui.	29
	Sonora Cautiverio Son_Cap	Rancho Las Ánimas, Lista Blanca, Rancho La Esperanza, Rancho Pilares ^{££} , Ejido San José, El Gran Chaparral, Poniente RC II, Los Chinos, Agua Blanca, Ejido San Ramón.	113
	Sonora Isla Tiburón Son_IT	Muestras colectadas directamente de Isla Tiburón ^{¥¥}	64
Baja California Sur	BCS Norte, Sierra Las Vírgenes BCS_N	Bienes Comunales Lic. Alfredo Bonfíl.	17
	BCS Centro Sierra la Giganta BCS_C	Ejido Loreto, Ejido San Javier, Santo Domingo, San José Noria	23
	BCS Sur Sierra el Mechudo BCS_S	Ejido Tepentú, Ejido Ley Federal de Aguas II	15
	Baja California Sur Isla del Carmen BCS_IC	Isla del Carmen	18
	Baja California Sur	Sin información	6**
	Sonora	Sin información	5**
	Total		

^{££} Muestras previamente analizadas en Durán-Álvarez (2013). ^{¥¥} Muestras analizadas en Gasca-Pineda *et al.* (2013). ** Las muestras sin localidad de origen sólo se utilizaron para los estimados de diversidad y estructura globales.

Cabe señalar que el muestreo incluye a dos subespecies de borrego cimarrón (*O. c. mexicana* en Sonora y *O. c. weemsi* en BCS), sin embargo, debido a que la validez taxonómica de las subespecies es controversial (Wehausen y Ramey 2000), en el presente estudio se referirá únicamente como poblaciones de Sonora y BCS (Tabla 3.3).

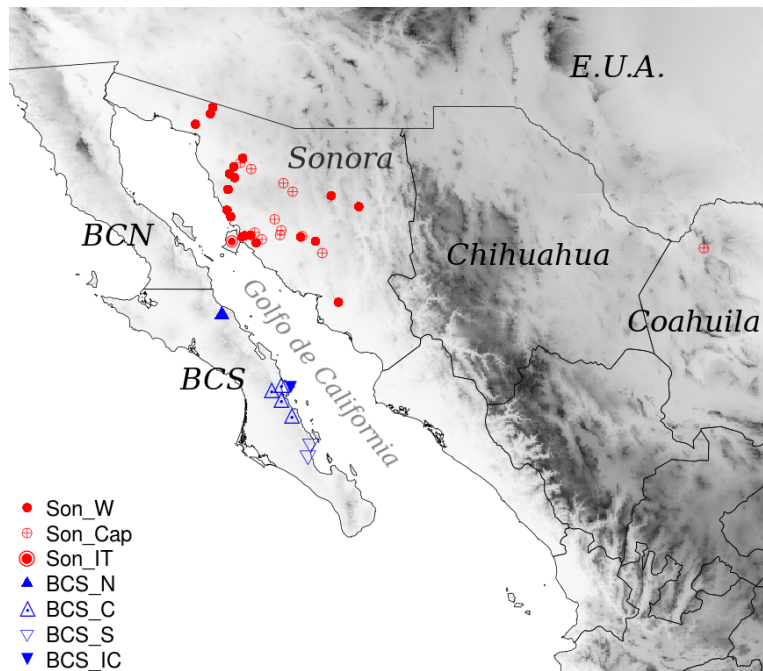


Figura 3.8. Distribución geográfica de las muestras de borrego cimarrón usadas en este estudio.

La extracción de ADN fue llevada a cabo dependiendo del tipo de muestra, los protocolos de extracción se reportan en el Apéndice P.4. La variación genética fue cuantificada con el mismo juego de microsatélites utilizado en la sección anterior, pero excluyendo el marcador *OarFcb266*, con lo que se analizó un total de 11 loci de microsatélites (Apéndice P.3).

Análisis de los datos

Para evaluar la diversidad genética se estimaron los estadísticos de resumen H_E y H_o . Debido a que la muestra se compone por poblaciones y localidades con distintos tamaños (Tabla 3.3), se estimó la riqueza alélica rarefaccionada (A_r) usando el tamaño de muestra mínimo por Estado. Los estimados fueron obtenidos con los paquetes “adegenet” (Jombart 2014) y “hierfstat” (Goudet 2005) del software R v 3.01 (R Core

Team, 2013). El índice de fijación (F_{IS}) así como su significancia fue calculada usando Genepop v 4.1 con las condiciones previamente reportadas. Para evaluar los niveles de endogamia en las poblaciones de cautiverio y silvestres de Sonora, se usó el índice **F** de identidad por ancestría, propuesto por Jombart (2014), implementado en el paquete “aedegenet”. El índice **F** se define como la verosimilitud de que en un locus dado, dos alelos idénticos sean heredados por un ancestro común (i.e. autocigosis), y se estima de manera individual para cada locus y cada individuo.

Los niveles de estructura genética se estimaron usando el estadístico F_{ST} (Wright 1965; Weir y Cockerham 1984), y su significancia fue determinada usando un tabla de contingencia con el *G-statistic* (Goudet *et al.* 1996; Petit *et al.* 2001) implementado en “adegenet”, con 10,000 iteraciones. Para explorar la posible subestructura genética en las poblaciones estudiadas, se utilizó el software STRUCTURE v 2.4, usando las condiciones previamente mencionadas. Adicionalmente, se utilizó un análisis discriminante de componentes principales (DAPC, por sus siglas en inglés) implementado en “adegenet”. Este análisis fue elegido por las siguientes características: i) lleva a cabo una reducción del número de componentes para obtener la mayor cantidad de varianza explicada, por lo que se puede usar en poblaciones con poca variación genética, ii) la representación gráfica es muy informativa para poblaciones con altos niveles de mezcla, y iii) no tiene ningún supuesto evolutivo, por lo que no se ajusta a un modelo *a priori* que puede no corresponder con la población de estudio (p. ej. proporciones de H-W, apareamientos al azar).

Para estimar el tiempo de divergencia entre las poblaciones de Sonora y BCS, se utilizó el programa PopABC v 1.0 (Lopes *et al.* 2009). El programa se basa en un

algoritmo ABC que simula escenarios de los cuales se muestrean parámetros y estadísticos de resumen en un espacio de distribución *a priori*. Posteriormente, se eligen los parámetros que tengan los valores de los estadísticos de resumen más cercanos al juego de datos real. Las condiciones de las corridas del software se reportan en el Apéndice S.5. Los parámetros fueron estimados usando los scripts de R proporcionados por los autores. Para detectar cambios en el tamaño efectivo, así como la fecha del cambio, se utilizó MSVAR v 1.3 usando las condiciones reportadas en el Apéndice S2. Cabe señalar que las muestras de cautiverio pueden sesgar los resultados, debido a que se puede tener una sobre-representación de genotipos debido al manejo de las poblaciones. Para mitigar este efecto se llevó a cabo un análisis de rarefacción de la muestra de cautiverio (Son_Cap) y de las muestras de las islas (Son_IT y BCS_IC) para obtener un tamaño de muestra mínimo que recupere más del 90% de los alelos. Usando el tamaño mínimo obtenido, se hizo un muestreo al azar de los individuos y éstos se integraron al análisis con las poblaciones silvestres. Todos los análisis estadísticos y gráficos fueron llevados a cabo usando R.

Resultados

Diversidad genética

La diversidad genética para la muestra total fue de $H_E = 0.566$, con 51 alelos para los 11 loci de microsatélites analizados (los detalles para cada marcador se reportan en el Apéndice S.7). En la población de Sonora todos los loci fueron polimórficos, mientras que en las poblaciones BCS_C, BCS_S y BCS_IC, se encontraron loci monomórficos (Tabla 3.3,

Apéndice S.7). Sonora tuvo mayor diversidad genética que BCS (Tabla 3.3 y Fig. 3.5), ya que sus estimados de diversidad mostraron diferencias significativas (prueba de t pareada, $p < 0.5$, Apéndice S.7). Incluso la muestra de cautiverio de Sonora, Son_Cap, mostró mayor diversidad que la población completa de BCS. Dentro de la población de Sonora, la muestra de Son_W tuvo mayor diversidad genética que la muestras de cautiverio e Isla Tiburón (Tabla 3.3, Fig. 3.5), aunque sólo *Ar* a tuvo significancia estadística ($p < 0.5$). Por su parte, la población de BCS mostró una marcada reducción de la diversidad genética hacia el sur de la península, en donde las diferencias fueron sigfificativas para todos los estimados (prueba de t pareada, $p \leq 0.5$), exceptuando entre BCS_S y BCS_S. También se encontró que sólomente BCS_N fue polimórfico para todos los loci analizados.

Tabla 3.3. Heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_E), número de alelos (A), número de alelos promedio por locus (na), riqueza alélica rarefaccionada (Ar), y el índice de Fijación (F_{IS}) obtenidos para las poblaciones de Sonora y BCS. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar.

	H_o	H_E	A	Ar^*	F_{IS}
Sonora	0.501(0.115)	0.538 (0.122)	43	3.191 (1.073)	0.073**
Son_W	0.529 (0.168)	0.559 (0.123)	41	3.664 (1.431)	0.083*
Son_Cap	0.494 (0.122)	0.525 (0.119)	39	3.131 (1.008)	0.059*
Son_IT	0.489 (0.120)	0.511 (0.140)	33	2.860 (0.968)	0.052*
BCS	0.192 (0.191)	0.253 (0.222)	34	1.603 (0.528)	0.258***
BCS_N	0.309 (0.225)	0.328 (0.204)	31	2.621 (0.972)	0.093
BCS_C	0.252 (0.267)	0.261 (0.249)	24	1.993 (0.963)	0.076*
BCS_S	0.098 (0.187)	0.085 (0.152)	17	1.468 (0.611)	-0.105
BCS_IC	0.066 (0.149)	0.077 (0.176)	15	1.331 (0.822)	0.186
Total	0.419 (0.119)	0.566 (0.150)	51	4.040 (1.710)	0.260***

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ † La rarefacción se hizo tomando en cuenta el número más pequeño de muestra por Estado.

Para la muestra global se obtuvo un valor significativo de $F_{IS}=0.260$ ($p<0.001$). En el caso de Sonora se observaron valores relativamente bajos pero significativos de F_{IS} (0.052-0.073; $p<0.05$, Tabla 3.3). Para BCS se estimó un valor global de $F_{IS}= 0.258$ ($p<0.001$), mientras que sus localidades mostraron valores contrastantes, de hecho BCS_C fue la única población que mostró un valor significativo (Tabla 3.3). No obstante, la significancia de F_{IS} en las poblaciones de BCS_C y BCS_IC puede estar sesgada por el bajo número de loci polimórficos (cuatro y dos, respectivamente).

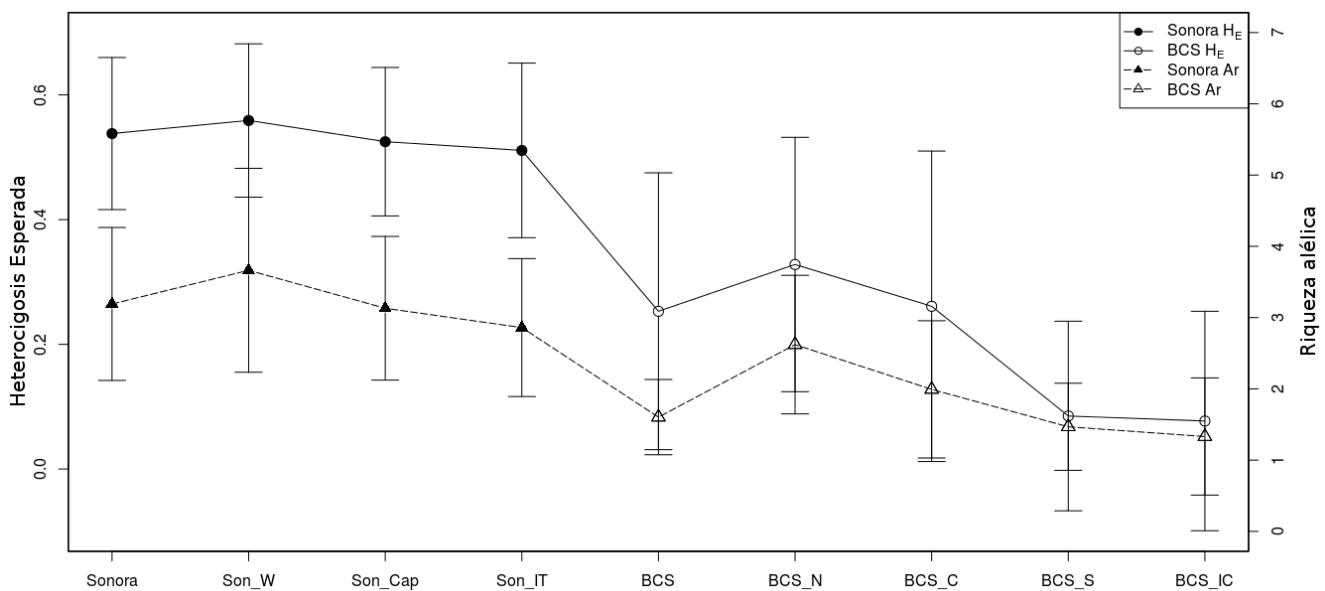


Figura 3.5. Heterocigosis esperada (H_E) y riqueza alélica (Ar) de las poblaciones de *O. canadensis* analizadas. Las barras representan la desviación estándar.

Estructura genética

Entre Sonora y BCS se encontró un valor de $F_{ST}=0.362$ ($p<0.001$). En la población de Sonora se encontraron valores bajos pero significativos de estructura genética entre sus poblaciones (Tabla 3.5a). En el caso de las poblaciones de BCS, se encontraron

valores más altos de estructuración entre las localidades excepto por IC y BCS_S (Tabla 3.5b).

Tabla 3.5. Valores de F_{ST} pareados dentro de las localidades de Sonora (a) y BCS (b). En negritas se muestran los valores significativos ($p < 0.05$)

a)	Son_W	Son_Cap	Son_IT	b)	BCS_N	BCS_C	BCS_S	BCS_IC
Son_W	-			BCS_N	-			
Son_Cap	0.019	-		BCS_C	0.126	-		
Son_IT	0.050	0.022	-	BCS_S	0.128	0.357	-	
				BCS_IC	0.125	0.367	-0.001	-

El análisis de asignación de genotipos dividió a la muestra total en dos grupos, asignando a todos los individuos a su Estado de origen, con un 90% de individuos con un valor de asignación mayor a 0.85. Para la muestra de Sonora, el análisis encontró $k=2$, sin embargo, menos del 30% de los individuos tienen una probabilidad de asignación mayor al 85% y de éstos, la asignación en cada grupo no revela correspondencia con el origen de la muestra, es decir, no se agrupan por encierro, localidad u origen geográfico (Fig. 3.10a). Por su parte, en el análisis de DAPC (Fig. 3.10b), se aprecian los altos niveles de mezcla entre las muestras Son_Cap y Son_IT. Asimismo, se observa que si bien Son_W se encuentra más alejada, ésta comparte individuos con las otras dos muestras.

En el caso de BCS, STRUCTURE resolvió para $k=3$, en donde la asignación de los individuos se aproxima a las tres regiones montañosas (Fig. 3.10c). Aunque se puede observar que las localidades comparten genotipos de los distintos clusters y además muestran un cierto grado de mezcla. En el análisis de DAPC se aprecia la divergencia

entre las poblaciones, asimismo, se observa que las poblaciones BCS_S y BCS_IC se encuentran “sobrelapadas” (Fig. 3.10d), lo que confirma su origen común.

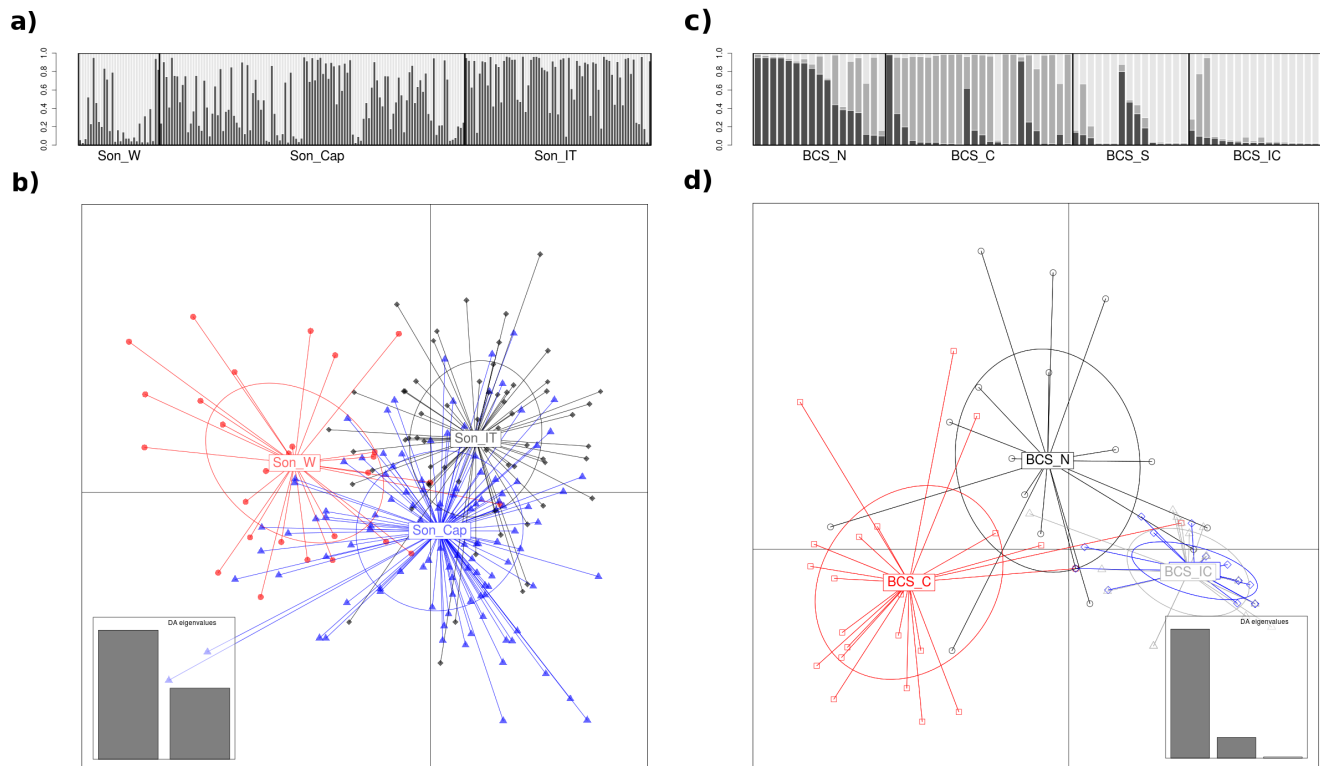


Figura 3.10. Análisis de asignación de genotipos para Sonora (a), y BCS (c). Los tonos de gris representan a los clusters obtenidos por STRUCTURE, las muestras se encuentran ordenadas por su origen. En la parte de abajo se presentan los análisis de DAPC para la población de Sonora (b), y BCS (d). Los puntos representan a un individuo y la elipse representa el 95% de la inercia de los grupos.

Endogamia en las poblaciones de cautiverio de Sonora

El intervalo del índice de endogamia **F** de Sonora fluctuó entre 0.110 y 0.711, con la frecuencia más alta entre 0.23 y 0.37 (Fig. 3.11). La distribución de **F** fue similar entre Son_W, Son_Cap y Son_IT, y no mostraron diferencias significativas ($p > 0.6$).

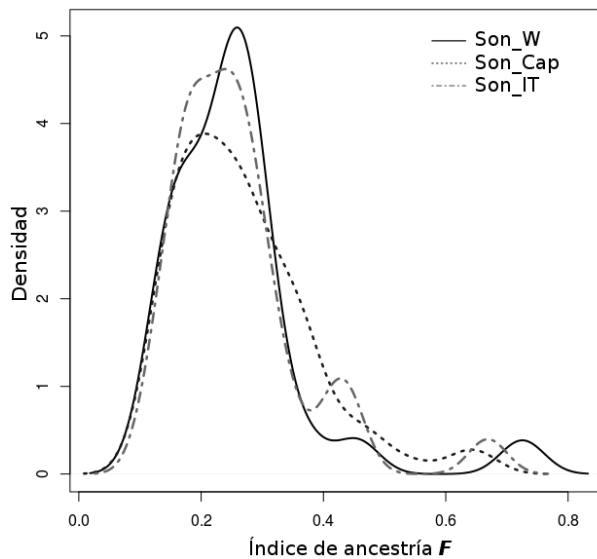


Figura 3.11.

Distribución del coeficiente de endogamia F en las poblaciones silvestres (Son_W), de cautiverio (Son_Cap), e Isla Tiburón (Son_IT) de Sonora.

Tamaño efectivo e historia demográfica

El tiempo de divergencia entre las poblaciones de Sonora y BCS fue de 4,083 (1,640-6,540) generaciones. Considerando un tiempo generacional de entre dos y tres años, el tiempo de divergencia en años es de $\sim 10,000$ años. El tamaño efectivo ancestral previo a la divergencia de las poblaciones resultó de $N_e = 44,439$ (15,710-73,329). Tanto la población de Sonora como la de BCS mostraron señales significativas de reducción en su tamaño poblacional. Sus estimados del tamaño efectivo N_{stbl} , fueron grandes, de más de 11,000 individuos, mientras que los tamaños actuales N_{crnt} , fueron menores a 500 individuos. Los tiempos de cambio en el tamaño efectivo T_{fa} , fueron antiguos, de más de 1,000 generaciones (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Valores de tamaño efectivo actual (N_{cmt}), tamaño efectivo ancestral estable (N_{stbl}) y tiempo de cambio del tamaño efectivo (Tfa) en generaciones, de las poblaciones de Sonora y BCS. Entre paréntesis se muestran los intervalos de alta densidad al 90%.

	N_{cmt}	N_{stbl}	Tfa
Sonora	385 (110-1297)	11,504 (2,624-52,850)	2,125(396-11,299)
BCS	178 (37-745)	14,190 (2,950-70,587)	1,365 (210-8,409)

Discusión

Diversidad genética de O. canadensis en México

El borrego cimarrón en México mostró niveles de diversidad genética dentro de lo reportado para otras poblaciones en cautiverio o manejo para microsatélites nucleares (Tabla 3.1 y Tabla 3.3). Sin embargo, estos valores resultan bajos si se comparan con poblaciones silvestres (p. ej. $H_E=0.650$ en California; Epps *et al.* 2010). En el caso de la población de Sonora, Son_W mostró un valor mayor de riqueza alélica (A_r) que las Son_Cap y Son_IT. El hecho de que no se encontraran diferencias significativas para los demás estimados de diversidad genética puede deberse a que los cuellos de botella poblacionales disminuyen la H_E a una tasa más lenta que el número de aleos. Asimismo, este efecto es más marcado cuando las poblaciones crecen rápidamente después un cuello de botella reciente (Allendorf 1986). Un patrón similar se encontró en poblaciones de borrego cimarrón reintroducidas en California, E.U.A. (Epps *et al.* 2010), en donde todas las poblaciones fundadas mostraron menor riqueza alélica al compararlas con la población fuente, y no así con los estimados de H_E . El tamaño efectivo de Sonora $N_{cmt}=385$ es bajo si se toma en cuenta que el muestreo representa al Estado completo, mientras que los demás estimados obtenidos en este estudio son de poblaciones locales

y/o de manejo (Tabla 3.1 y 3.2). Por su parte, la diversidad genética de la población de BCS fue menor que la de Sonora (Fig. 3.5), de hecho las localidades BCS_S y BCS_IC mostraron los niveles más bajos de diversidad genética reportados para cualquier población de la especie (Tabla 3.3 y Fig 3.9). No obstante, su tamaño efectivo, aunque reducido ($N_{cmt}=178$), resultó mayor que lo encontrado en poblaciones que han sufrido colapsos demográficos (Tabla 3.1; Whittaker *et al.* 2004).

Estructura genética dentro y entre Estados

Por otra parte, Sonora y BCS mostraron valores altos de estructuración entre ellas, lo que se ve reflejado tanto en el valor de F_{ST} como en el valor de F_{IS} (Tablas 3.4 y 3.5). De acuerdo con los análisis ABC, esta diferenciación genética entre las poblaciones puede ser explicada por una divergencia entre las poblaciones hace $\sim 10,000$ años. El resultado corresponde con la antigüedad de los fósiles de la especie en Baja California (Lee 1996).

Dentro de la población de Sonora se encontró estructura genética baja y difusa (Fig. 3.10a). En el análisis de DAPC (Fig. 3.10b) se puede apreciar que se comparten genotipos entre las muestras, lo que refleja el manejo y la historia común de la fundación de las poblaciones. También se puede apreciar que IT ha sido una fuente importante de individuos para la fundación de poblaciones de cautiverio (Fig. 3.10b). Los estimados de endogamia mostraron que hay individuos con altos niveles de endogamia y otros con bajos, lo cual era de esperarse en una especie con una estructura social como el borrego cimarrón. Sin embargo, es interesante que los niveles de endogamia no mostraron diferencias entre la muestra de cautiverio y la silvestre.

En contraste, las poblaciones de BCS tuvieron estructura genética muy marcada (excepto entre BCS_S y BCS_IC). De hecho el valor de F_{ST} de BCS_C con las otras localidades del Estado fue muy similar al valor obtenido entre Sonora y BCS, lo que sugiere procesos de aislamiento y severa deriva génica en estas localidades.

Historia natural y la diversidad genética del borrego cimarrón

El primer resultado que llama la atención es la baja diversidad genética observada en el borrego cimarrón en México. Es necesario considerar que el borrego cimarrón es una especie que colonizó del norte al sur del continente y que las poblaciones de México representan el límite inferior de su distribución. Los registros fósiles así como los arqueológicos indican que la especie colonizó México hace menos de 20,000 años. Asimismo, durante el Holoceno tardío ocurrieron varios eventos de sequía severa que modificaron el tipo de vegetación de Norteamérica y por lo tanto el hábitat de los artiodáctilos (Lyman 2009). También hay que considerar que en general las poblaciones que se encuentran en los límites de la distribución de una especie presentan niveles más bajos de diversidad (Garner *et al.* 2004). Lo anterior, aunado a las presiones de cacería por los nativos americanos (Janetski 1997), hace posible esperar que el borrego cimarrón tuviera bajos niveles de variación genética.

El tiempo de divergencia entre Sonora y BCS, la fecha de cambio en el tamaño poblacional T_{fa} , así como el patrón de disminución de diversidad genética sugieren que BCS es una población reciente y que los patrones de la distribución de su diversidad genética se debe a un proceso de colonización reciente, seguido de deriva génica

causada por aislamiento geográfico.

Los tiempos estimados de cambio poblacional T_{fa} sugieren que la disminución en el tamaño efectivo del borrego cimarrón en México no es reciente. Aún cuando se ha reportado que el método de MSVAR no es sensible a cambios recientes del tamaño poblacional (Girod *et al.* 2011), el método ha demostrado detectar cambios en el tamaño efectivo si éstos son muy severos (ver Discusión en la sección anterior; Gasca-Pineda *et al.* 2013). Esto indica que la baja diversidad genética y tamaño efectivo reducido podrían ser debidos a eventos antiguos que redujeron las poblaciones de borrego cimarrón. Lo anterior podría explicar el aparente éxito de la fundación de poblaciones con pocos individuos en México (en particular en Isla del Carmen), debido a que en BCS la especie se encuentra previamente adaptada a tener poca diversidad genética, o bien ha sufrido de una purga de variación genética recesiva deletérea. Esto podría permitir que las poblaciones fundadas con pocos individuos sean menos susceptibles a problemas de sobrevivencia por depresión por endogamia y acumulación de mutaciones deletéreas (Kalinowski *et al.* 1999) y permitir la recuperación natural de la especie en su distribución de origen, esto a pesar de que se encontró bajo fuertes reducciones poblacionales.

Sin embargo esto no implica que las actividades antropogénicas actuales no hayan tenido un efecto negativo en las poblaciones de borrego cimarrón. A pesar de la aparente ausencia de deriva génica y endogamia en la muestra de cautiverio, Son_Cap, se encontró una reducción clara en la variación genética. Asimismo, el tamaño efectivo de los encierros puede conllevar a una pérdida de diversidad genética en el futuro en particular cuando se usan pocos individuos fundadores (Fig. 3.5; Gasca-Pineda *et al.* 2013). En el borrego cimarrón, se han reportado colapsos poblacionales después de más

de 30 años de la fundación de las poblaciones, cuando mostraron crecimientos constantes en los primeros años (Whittaker *et al.* 2004). En todo caso, para evitar la pérdida de variación genética futura en las poblaciones de cautiverio es necesario mantener el intercambio de individuos entre estas poblaciones así como la complementación con individuos de poblaciones silvestres.

Para la población de BCS, la historia de colonización y pérdida de variación genética aparentemente propició su recuperación y el éxito de su reintroducción. No obstante, la baja diversidad genética y su tamaño efectivo hace a sus poblaciones más susceptibles a la deriva génica, lo cual se hace patente en los valores de F_{ST} encontrados. Por ello es necesario mantener corredores que permitan la conectividad de las poblaciones, con el fin de evitar su aislamiento. Asimismo, se debe evitar la reintroducción de individuos de Isla del Carmen al continente, ya que esto puede homogeneizar la variación genética en las poblaciones donde se introduzcan, llevando a una severa reducción de la diversidad en las poblaciones BCS.

Uno de los resultados más relevantes de éste estudio es que las poblaciones de Sonora y BCS tienen historias evolutivas distintas, lo que implica que no sólo deben mantenerse como unidades independientes, sino también que no se deben aplicar las mismas estrategias de manejo. Por ejemplo, las poblaciones de cautiverio de Sonora deben mantener un intercambio de individuos para evitar deriva génica y endogamia a futuro, mientras que en BCS los esfuerzos deben dirigirse a mantener un contacto natural entre las poblaciones. Además la baja diversidad de las poblaciones del sur de BCS, las puede hacer más susceptibles a enfermedades, lo que hace que la translocación de individuos en BCS no sea recomendable, ya que ésta puede conllevar a la dispersión de

agentes infecciosos.

Recomendaciones para el manejo de O. canadensis

- Las poblaciones de Sonora y BCS mostraron altos niveles de diferenciación genética debido a procesos históricos, por lo que es importante mantenerlas como unidades de manejo independientes. Ello implica mantener un aislamiento entre ellas.

Para el Estado de Sonora:

- Mantener el contacto genético entre las poblaciones de cautiverio mediante el intercambio de individuos, manteniendo por supuesto un control sanitario.
- Complementar la variación genética con individuos provenientes de poblaciones silvestres.
- Monitorear las cruzas para evitar en lo posible los apareamientos entre parientes cercanos. Esto implicaría movimiento de animales entre los encierros.
- Utilizar el mayor número de fuentes para fundar nuevas poblaciones, y de ser posible complementar con individuos silvestres.

Para el Estado de BCS:

- Mantener corredores que permitan el contacto entre las poblaciones de BCS, en

particular dentro de las regiones montañosas.

- Debido a la baja diversidad genética y alta diferenciación, el aprovechamiento debe ser muy regulado, y es necesario tener un continuo monitoreo demográfico de las poblaciones.
- No se debe usar Isla del Carmen para la reintroducción de individuos en las regiones de las que no eran originarios los fundadores de la isla.

Conclusiones

- a) El borrego cimarrón es una especie muy reciente en México,
- b) Las poblaciones de Sonora y BCS representan poblaciones genéticamente diferenciadas por procesos históricos naturales, por lo que deben ser consideradas como unidades de manejo diferentes.
- c) Las diferencias en la diversidad genética entre las poblaciones de Sonora y BCS se deben a procesos históricos, pero también tienen un componente antropogénico.
- d) Las muestras de cautiverio de Sonora mostraron pocas diferencias en su diversidad genética con respecto a la muestra silvestre.
- e) Las poblaciones de cautiverio no mostraron signos de deriva génica o endogamia. Sin embargo, se recomienda mantener el intercambio de individuos entre ellas, así como introducir individuos silvestres para evitar la pérdida de variación genética.
- f) Las poblaciones de BCS mostraron fuertes señales de estructuración, por lo que es una prioridad mantener el contacto entre ellas.

- g) La historia natural de la colonización de BCS favoreció la recuperación de las poblaciones continentales y el éxito de la población de Isla del Carmen.
- h) Debido a sus bajos niveles de variación genética, no debe usarse Isla del Carmen como fuente de individuos para reintroducción en zonas del norte de BCS.

Capítulo 4: Conclusiones generales y perspectivas

- a) El estudio de la variación genética en especies amenazadas permite conocer el impacto del manejo, y en consecuencia el diseño de mejores estrategias de manejo y conservación.
- b) En ambas especies, los factores naturales y antropogénicos han tenido un fuerte impacto en la magnitud de la variación genética.
- c) En el caso del bisonte, es claro que el uso de herramientas genéticas son indispensables para su conservación.
- d) En el borrego cimarrón, el manejo ha tenido un impacto moderado sobre su diversidad genética. Sin embargo, los efectos negativos pueden presentarse a mediano plazo, por lo que es necesario llevar a cabo acciones preventivas que mitiguen la pérdida de diversidad genética.
- e) La diversidad de ambientes que presenta México hace que las estrategias de conservación sean diferentes para distintas poblaciones.

Perspectivas

A pesar de que los microsatélites y las secuencias mitocondriales son una herramienta efectiva para la cuantificación de la variación genética en los mamíferos, es necesario realizar análisis utilizando técnicas moleculares de nueva generación. Esto además de permitir la estimación de la diversidad genética a nivel genómico, hará factible la aproximación a problemas específicos para la conservación, como la depresión por endogamia y la supervivencia en poblaciones de cautiverio (Kohn *et al.* 2006). Adicionalmente, permitirá abordar temas sobre la adaptación y evolución por medio de la

detección de loci asociados a la adaptación en distintos ambientes (Gilad *et al.* 2009; Ekblom y Galindo 2011). En el caso del bisonte, se propone analizar un número mayor de muestras, no sólo para identificar a los individuos con ancestría híbrida, sino también para encontrar la variación genética que ayude al manejo genético de la especie. Para este fin, se propone usar chips comerciales de SNPs (p.ej. Illumina BovineSNP50, BovineLD v1.1), los cuales han demostrado tener una buena relación entre el costo y la cantidad de información generada (Pertoldi *et al.* 2010).

Bibliografía

- Abad-Zavaleta J**, Sifuentes-Rincon A, Lafon-Terrazas J, Gutierrez-Alderete E, Gonzalez-Rodriguez JA (2013) Genetic diversity analysis of two desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*) population in México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 14: 171-178.
- Allendorf FW** (1986) Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biol* 5:181-190.
- Álvarez-Romero J**, Medellín RA (2005). Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Anderson RC** (1972) The ecological relationships of meningeal worm and native cervids in North America. *J Wildl Dis* 8:304-310.
- Arif IA**, Khan HA, Shobrak M, Homaidan AAA, Sadoon MA, et al. (2010) Measuring the genetic diversity of Arabian Oryx using microsatellite markers: implication for captive breeding. *Genes Genet Syst* 85:141-145.
- Baker J**, López-Medrano E, Navarro-Sigüenza KE, Rojas-Soto O, Omland KE (2003) Recent speciation in the orchard Oriole group: divergence of *Icterus spurius spurius* and *Icterus spurius fuertesi*. *The Auk* 120:3 848-859.
- Baker RH** (1956) Mammals of Coahuila. Museum of Natural History, University of Kansas 9:127-133.
- Ballou JD**, Foose TJ (1996) Demographic and genetic management of captive populations. En: Kleinman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S (Eds.). *Wild Mammals in Captivity*. University of Chicago Press.
- Banfield AWF** (1974) The mammals of Canada. Univ. Toronto Press, Toronto.
- Bannor B** (2003) Captive animal liability: 19th century foundations and 20th century modifications. *Zoo Biol* 22:5 489-496.
- Beaumont MA** (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153:2013-2029.
- Beaumont MA** (2001). Conservation genetics. En: Balding DJ, Bishop M, Cannings C (Eds.) (2008) *Handbook of statistical genetics* (Vol. 1). John Wiley & Sons.
- Beaumont MA** (2003) Estimation of population growth or decline in genetically monitored populations. *Genetics* 164:1139-1160.
- Berger J** (1990) Persistence of different-sized populations: an empirical assessment of rapid extinctions in bighorn sheep. *Cons Biol* 4:1 91-98.

Berger WH (1990) The Younger Dryas Cold Spell-A Quest For Causes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol* 89: 219-237.

Booth RK, Jackson ST, Forman SL, Kutzbach JE, Bettis III, *et al.* (2005) A severe centennial-scale drought in mid-continental North America 4200 years ago and apparent global linkages. *The Holocene* 15:321-328.

Boyce WM, Ramey RR, Rodwell II TC, Rubin ES, Singer RS (1999) Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. *Mol Ecol* 8:99-106.

Boyce MS (2002) Reconciling the small-population and declining- population paradigms. En: SR Beissinger DR McCullough. Population viability analysis. Chicago: The University of Chicago Press.

Boyd MM (1914) Crossing bison and cattle. *J Hered* 5:189-197.

Boyd DP (2003) Conservation of North American bison: status and recommendations. Unpublished Master's thesis. Faculty of Environmental Design, University of Calgary, Calgary, Alberta.

Brigham WR, Rominger EM, Espinosa A (2007) Invited Paper Desert bighorn sheep management: reflecting on the past and hoping for the future. *Desert Bighorn Council Trans* 49:1-7.

Briton J, Nurthen RK, Briscoe DA, Frankham R (1994) Modelling problems in conservation genetics using *Drosophila*: consequences of harems. *Biol Conserv* 69: 267-275.

Brown D (1994) The development of woody vegetation in the first 6 years following clear-cutting of a hardwood forest for a utility right-of-way. *Forest Ecol Manag* 65:2 171-181.

Buechner HK (1960) The bighorn sheep of the United States: its past, present and future. *Wildlife Monogr* 4:3-174.

Burzyńska B, Olech W, Topczewski J (1999) Phylogeny and genetic variation of the European bison *Bison bonasus* based on mitochondrial DNA D-loop sequences. *Acta Theriologica* 44:3 253-262.

Byers DA, Broughton JM (2004) Holocene environmental change, artiodactyl abundances, and human hunting strategies in the great basin. *Am Antiquity* 69:235-255.

Caballero A (1994) Developments in the prediction of effective population size. *Heredity* 73:657-679.

Cannon KP (2001) What the past can provide: Contribution of prehistoric bison studies to modern bison management. *Great Plains Res* 11:145-174.

Carpenter JR (1940) The grassland biome. *Ecol Monographs* 10:617-684.

Ceballos G, Oliva G (2005) Los mamíferos silvestres de México. Vol. 986. México, DF: Fondo de cultura económica.

Charlesworth B (2009) Fundamental concepts in genetics: effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nat Rev Genet* 10:195-205.

Clements FE (1920) Plant indicators. Publ. Carnegie Inst. Washington, 190:xvi.

Colchero F, Medellín RA, Clark JS, Lee R, Katul GG (2009) Predicting population survival under future climate change: density dependence, drought and extraction in an insular bighorn sheep. *J Anim Ecol* 78:666-673.

Coltman DW (2005) Testing marker-based estimates of heritability in the wild. *Mol Ecol* 14:2593-2539.

Coppock DL, Ellis JE, Detling JK, Dyer MI (1983) Plant-herbivore interactions in a North American mixed-grass prairie. II. Responses of bison to modification of vegetation by prairie dogs. *Oecologia* 10-15.

Corbet GB, Hill JE (1991) A world list of mammalian species, 3ra ed. Natural History Museum Publications.

Cornuet JM, Ravigné V, Estoup A (2010) Inference on population history and model checking using DNA sequence and microsatellite data with the software DIYABC (v1.0). *BMC Bioinformatics* 11:401

Corti P, Shafer AB, Coltman DW, Festa-Bianchet M (2011) Past bottlenecks and current population fragmentation of endangered huemul deer (*Hippocamelus bisulcus*): implications for preservation of genetic diversity. *Conserv Genet* 12:119-128.

COSEWIC (2004) Canadian species at risk. Environment Canada, Ottawa, ON. URL: www.cosewic.gc.ca.

Cowan I (1940) Distribution and variation in the native sheep of North America. *Am Wild Nat* 24:505-580.

Crow JF, Kimura M (1970) An introduction to population genetics theory. New York: Harper and Row.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9:8 772.

DeForge JR, Jenner CW, Plechner AJ, Sudmeier GW (1979) Decline of bighorn sheep (*Ovis canadensis*), the genetic implications. *Desert Bighorn Counc Trans* 23:63-66.

DeForge JR, Jimenez S, Barret EM, Ostermann SD, Valdez R, Hernandez C, Willmot C (1996) *Ovis canadensis weemsi* Sampling and translocation for a conservation program in Baja Sur. *Desert Bighorn Counc Trans* 28:44 45.

- DeForge JR**, Valdez R (1984) Status of investigations of desert bighorn sheep in Sonora, Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 28: 41-43.
- Dekker D** (2009) Declines of Bighorn Sheep, *Ovis canadensis*, on deteriorating winter range in Jasper National Park, Alberta, 1981-2010. *Can Field Nat* 123:157-164.
- Dobzhansky T** (1973) Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *American Biology Teacher*, volume 35, pp. 125-129.
- Dorn CG** (1995) Application of reproductive technologies in North American bison (*Bison bison*). *Theriogenology* 43:13-20.
- Dratch DA**, Gogan PJP (2010) Bison Conservation Initiative: Bison Conservation Genetics Workshop: Report and Recommendations. Natural Resource Report NPS/NRPC/BRMD/NRR 2010/257. National Park Service, Fort Collins, Colorado.
- Durán Álvarez C** (2013) Genética de poblaciones de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) en Pilares, Coahuila, México. Su manejo y conservación en cautiverio". Facultad de Ciencias. UNAM México.
- Earl DA**, von Holdt BM (2011) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4: 359-361.
- Eklom R**, Galindo J (2011) Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity* 107:1 1-15.
- Epps CW**, Palsbøll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey RR, McCullough DR (2005) Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecol Lett* 8:1029-1038.
- Epps CW**, Wehausen JD, Palsbøll PJ, McCullough DR (2010) Using genetic tools to track Desert bighorn sheep colonizations. *J Wildl Manag* 74:522-531.
- Evanno G**, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620.
- Ewing B**, Green P (1998) Basecalling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Res* 8:186-194.
- Ewens WJ** (1990) The minimum viable population size as a genetic and a demographic concept. In: Adams J, Lam DA, Hermalin AI, Smouse PE . *Convergent issues in genetics and demography*. Oxford: Oxford University Press.
- Excoffier LGL**, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Elsoufi JL**, Lightowlers RN (2006) Mitochondrial DNA clonality in the dock: can surveillance swing the case? *Trends Genet* 22:603-607.

Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567-1587.

Festa-Bianchet M (1999) Bighorn sheep. In: Wilson DE, Ruff S, editors. The Smithsonian Book of North American Mammals. Washington: The Smithsonian Institution Press.

Festa-Bianchet M (2008) *Ovis canadensis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Accesado en Junio de 2014.

Flores D (1991) Bison ecology and bison diplomacy: the southern plains from 1800 to 1850. *J Am Hist* 78:465-485.

Frankel OH, Soulé ME (1981) Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge.

Frankham R (1995) Conservation genetics. *Annu Rev Genet* 29:305-327.

Frankham R, Briscoe, DA, Ballou JD (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.

Frankham R (2005) Genetics and Extinction. *Biological Cons* 126:131-140.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) Introduction to Conservation Genetics. 2a ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Frantz AC, Schaul M, Pope LC (2004) Estimating population size by genotyping remotely plucked hair: the Eurasian badger. *J Appl Ecol* 41:985-995.

Fraser DJ, Bernatchez L (2001) Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Mol Ecol* 10:2741-2752.

Futuyma DJ (1979) Evolutionary biology. Sinauer, Sunderland, MA.

García E (1981) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 3a ed. Larios, Mexico.

Garner TW, Pearman PB, Angelone S (2004) Genetic diversity across a vertebrate species' range: a test of the central-peripheral hypothesis. *Mol Ecol* 13:5 1047-1053.

Gasca-Pineda J, Cassaigne I, Alonso RA, Eguiarte LE (2013) Effective population size, genetic variation, and their relevance for conservation: The bighorn sheep in Tiburón Island and Comparisons with Managed Artiodactyls. *PLoS ONE* 8:10 e78120.

Geist V (1971) The relation of social evolution and dispersal in ungulates during the Pleistocene, with emphasis on the Old World deer and the genus *Bison*. *Quat Res* 285-315.

Geist V (1985) On Pleistocene bighorn sheep: some problems of adaptation, and relevance to today's American megafauna. *Wild Soc Bull* 351-359.

Geist V (1991) Phantom subspecies: the wood bison *Bison bison* "athabascaae", Rhoads

1987 is not a valid taxon, but an ecotype. *Arctic* 44: 283-300.

Gelman A, Rubin DB (1992) Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat Sci* 7:457-511.

Gilad Y, Pritchard JK, Thornton K (2009) Characterizing natural variation using next-generation sequencing technologies. *Trends Genet* 25:10 463-471.

Gildart RC (1999) Mountain Monarchs: Bighorn Sheep. Minnetonka, MN: North World Press.

Ginja C, Penedo MC, Melucci L, Quiroz J, Martinez-Lopez OR, Revidatti MA, Martinez-Martinez A, Delgado JV, Gama LT (2009) Origins and genetic diversity of New World Creole cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms. *Anim Genet* 41:2 128-141.

Girod C, Vitalis R, Leblois R, Fréville H (2011) Inferring population decline and expansion from microsatellite data: a simulation-based evaluation of the Msvar method. *Genetics* 188: 165-179.

Goodnight C (1914) My experience with bison hybrids. *J Hered* 5:5 197-199.

Gordon D, Abajian C, Green P (1998) Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Res* 8:195-202.

Goudet J (2005) Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5:1 184-186.

Goudet J, Raymond M, de Meeüs T, Rousset F (1996). Testing differentiation in diploid populations. *Genetics* 144:4 1933-1940.

Gould SJ (2002) The structure of evolutionary theory. Harvard Univ Press, Cambridge, MA.

Gray AP (1954) Mammalian Hybrids: A Check-List with Bibliography. Robert Cunningham and Sons Ltd., Longbank Works, England.

Gray ST, Betancourt JL, Fastie CL, Jackson ST (2003) Patterns and sources of multidecadal oscillations in drought-sensitive tree-ring records from the central and southern Rocky Mountains. *Geophys Res Lett* 30:1316-1319.

Grayson DK (1991) Late Pleistocene extinctions in North America: taxonomy, chronology, and explanations. *J World Prehist* 5:193-232.

Grayson DK (2001) Did human hunting cause mass extinction? *Science* 294:1459.

Green WCH, Rothstein A (1991) Trade-offs between growth and reproduction in female bison. *Oecologia* 86:521-527.

Guthrie RD (1980) Bison and man in North America. *Can J Anthropology* 1:55-73.

Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Syst Biol* 59:3 307-21.

Gutierrez-Espeleta GA, Kalinowski ST, Boyce WM, Hedrick, PW (2000) Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. *Conserv Genet* 1:3-15.

Gutierrez-Espeleta GA, Hedrick PW, Kalinowski ST, Garrigan D, Boyce WM (2001) Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the result of low MHC variation? *Heredity* 86:439-450.

Halbert ND (2003) The utilization of genetic markers to resolve modern management issues in historic bison populations: implications for species conservation [dissertation]. [College Station (TX)]: Texas A&M University.

Halbert ND, Raudsepp T, Chowdhary BP, Derr JN (2004) Conservation genetic analysis of the Texas State Bison Herd. *J Mam* 85:924-931.

Halbert ND, Derr JN (2008) Patterns of genetic variation in US federal bison herds. *Mol Ecol* 17: 4963-4977.

Hall ER (1981) The mammals of North America, Vol. II. John Wiley & Sons. II. Nueva York.

Hall ER, Kelson KR (1959) The mammals of North America. Vol. 2 Ronald Press Company, New York.

Han MV, Zmasek CM (2009) phyloXML: XML for evolutionary biology and comparative genomics. *BMC Bioinformatics* 10: 356.

Hasegawa M, Kishino H, Yano TA (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 22:2 160-174.

Hawley AWL (1987). Bison and cattle use of forages. In Reynolds HW, Hawley A, (Eds.). Bison ecology in relation to agricultural development in the Slave River lowlands, N.W.T. Occasional Paper No. 63. Minister of Supply and Services Canada 1987.

Hawley AWL, Peden DG, Reynolds HW, Stricklin WR (1981) Bison and cattle digestion of forages from the Slave River Lowlands, Northwest Territories, Canada. *J Range Manag* 34:126-130.

Hawley RD (1970). Bison evolution and zoogeography in North America during the Pleistocene. *Quart Rev Biol* 1-15.

Halloran AF (1961) American bison weights and measurements from the Wichita Mountains Wildlife Refuge. *Proc Oklahoma Acad Sci* 41:212-218.

Hedrick PW (1995) Gene flow and genetic restoration: the Florida panther as a case study. *Conserv Biol* 9:996-1007.

- Hedrick PW** (2011) Genetics of populations. Fourth ed. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning.
- Hedrick PW** (2014) Conservation genetics and the persistence and translocation of small populations: bighorn sheep populations as examples. *Anim Cons* 17:2 106-114.
- Hedrick PW**, Fredrickson R (2010) Genetic rescue guidelines with examples from Mexican wolves and Florida panthers. *Cons Genet* 11:2 615-626.
- Hedrick PW**, Gutierrez-Espeleta GA, Lee RN (2001) Founder effect in an island population of bighorn sheep. *Mol Ecol* 10: 851-857.
- Hedrick PW**, Miller ES (1992) Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecol Appl* 2: 30-46.
- Hopkins DM** (1982) Aspects of the paleogeography of Beringia during the late Pleistocene. Pages 3-28. In D. M. Hopkins, J. V. Matthews Jr., C. E. Schweger, and S. B. Young, eds. Paleoeecology of Beringia. Academic Press, New York.
- Hyndman RJ**, Einbeck J, Wand M (2010) hrdcde: Highest density regions and conditional density estimation. R package version 2.15 <http://CRAN.R-project.org/package=hrdcde>. Instituto Nacional de Ecología INE (2000) Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) en México. SEMARNAP, México D.F.
- ITIS** (2014) Integrated Taxonomic Information System. <http://www.itis.gov>. Accesado enero 2014.
- Janetski JC** (1997) Fremont Hunting and Resource Intensification in the Eastern Great Basin. *J Archaeol Sci* 24: 1075-1088.
- Jaramillo-Monroy F**, Castellanos-Vera A (1992) Algunos aspectos de la población manejo y conservación del borrego cimarrón en Baja California Sur, México. *Ecologica* 2:1 25-30.
- Jimenez LS**, Hernandez C, DeForge JR, Valdez R (1997) Update on the conservation plan for Weems bighorn on Carmen Island, Baja California Sur, Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 41:44-50.
- Jombart, T** (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24:11 1403-1405.
- Kaeuffer R**, Coltman DW, Chapuis JL, Pontier D, Réale D (2007) Unexpected heterozygosity in an island mouflon population founded by a single pair of individuals. *Proc R Soc Lond B* 274: 527-533.
- Kalinowski ST**, Hedrick PW, Miller PS (1999) No inbreeding depression observed in Mexican and red wolf captive breeding programs. *Cons Biol* 13:6 1371-1377.
- Kelsall JP, Telfer ES, Kingsley M (1978) Relationship of bison weight to chest girth. *J Wildl Manag* 659-661.

- Kohn MH**, Murphy WJ, Ostrander EA, Wayne RK (2006) Genomics and conservation genetics. *TREE* 21:11 629-637.
- Krausman PR**, Etchberger RC (1995) Response of desert ungulates to a water project in Arizona. *J Wildl Man* 59:292-300.
- Krausman PR**, Etchberger RC (1996) Desert bighorn sheep and water: A bibliography (No. 13). US Geological Survey, Cooperative Park Studies Unit, School of Renewable Natural Resources, University of Arizona.
- Krausman PR**, Sandoval A, Etchberger RC (1999). Desert Bighorn Sheep: Natural History.
- Krausman PR**, Shackleton DM (2000) Bighorn sheep. In: Demarais S, Krausman PR, editors. Ecology and management of large mammals in North America. New Jersey: Prentice-Hall.
- Kruschke JK** (2012). Bayesian Estimation Supersedes the t Test. *J Exp Psychol: Gen* Advance online publication.
- Kurtén B**, Anderson E (1980) Pleistocene Mammals of North America. Columbia Univ. Press, New York.
- Larkin MA**, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, *et al.* (2007) ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Larson F** (1940) The role of the Bison in maintaining the short grass plains. *Ecology* 21: 113-121.
- Larter NC**, Gates CC (1991) Diet and habitat selection of wood bison in relation to seasonal changes in forage quantity and quality. *Can J Zool* 69:2677-2685.
- Leberg P** (2005) Genetic approaches for estimating the effective size of populations. *J Wildl Manag* 69:1335-1399.
- Lee R** (2009) Mexico's wild sheep. *Desert Bighorn Counc Trans* 50:61-65.
- Lee R**, Lopez-Saavedra EE (1993) Helicopter survey of desert bighorn sheep in Sonora, Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 37:29-32.
- Lee R**, Mellink E (1996) Status of bighorn sheep in Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 39:35-39.
- Lee R**, Segundo-Galan JM (2011) Status report on desert bighorn sheep in various states in Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 51:80-84
- Lessa EP**, Cook JA, Patton JL (2003) Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proc Nat Acad Sci* 100:18 10331-10334.

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.

Loader C (2012) locfit: Local Regression, Likelihood and Density Estimation. R package version 1.5-8. <http://CRAN.R-project.org/package=locfit>.

Lopes JS, Balding D, Beaumont MA (2009) PopABC: a program to infer historical demographic parameters. *Bioinformatics* 25:20 2747-2749.

Lott DF (2002) American Bison: A Natural History. University of California Press, London, England.

Luikart G, Allendorf FW (1996) Mitochondrial DNA variation and genetic-population structure in rocky mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*). *J Mamm* 77:1 109-123.

Luikart G, Ryman N, Tallmon D, Schwartz M, Allendorf F (2010) Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Cons Genet* 11: 355-373.

Lyman RL (2009) The Holocene history of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) in eastern Washington state, northwestern USA. *The Holocene* 19: 143-150.

de Magalhaes JP, Costa J (2009) A database of vertebrate longevity records and their relation to other life-history traits. *J Evol Biol* 22:1770-1774.

Mayr E (1976) Evolution and the Diversity of Life. Harvard Univ. Press, Cambridge.

McDonald JN (1981) *North American Bison: Their Classification and Evolution*. University of California Press, Berkeley.

McHugh T (1958) Social Behavior of the American Buffalo (*Bison bison bison*). *Zoologica* 43 part 1.

McHugh T (1972) The Time of the Buffalo. New Jersey: University of Nebraska Press, Lincoln.

Medellín RA, Manterola C, Valdez M, Hewitt DG, Doan-Crider, *et al.* (2005) History, ecology, and conservation of the pronghorn antelope, bighorn sheep, and black bear in Mexico. In: Cartron JL, Ceballos G, Felger RS, editors. Biodiversity, Ecosystems, and Conservation in Northern Mexico. Oxford: Oxford University Press.

Merriam CH (1901) Two new bighorns and a new antelope from Mexico and the United States. *P Biol Soc Wash* 14: 29-32.

Montoya B, Gates G (1975) Bighorn capture and transplant in Mexico. *Desert Bighorn Counc Trans* 19: 28-32.

Moore AMT, Hillman GC (1992) The Pleistocene to Holocene Transition and Human Economy in Southwest Asia: The Impact of the Younger Dryas. *Am Antiquity* 57: 482-494.

- Mooring MS**, Fitzpatrick TA, Benjamin JE, Fraser IC, Nishihira TT, *et al.* (2003) Sexual segregation in desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*). *Behavior* 140: 183-207.
- Moritz C** (1994) Defining "Evolutionary significant units" for conservation. *TREE* 9: 373-375.
- Nei M** (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Newell T**, Sorin A (2003) "*Bison bison*" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed September 02, 2005 at http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Bison_bison.html.
- Nowak RM** (1991) *Walker's mammals of the world*, 5th ed. John Hopkins University Press, Baltimore.
- Ni XW**, Meng K, Wu HL, Zhu GP (2009) Genetic diversity of a captive population of black muntjac revealed by a set of high polymorphism across-species microsatellites. *Anim Biol* 59: 273-281.
- Okonechnikov K**, Golosova O, Fursov M, the UGENE team (2012) Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28:1166-1167
- Olivieri GL**, Sousa V, Chikhi L, Radespiel U (2008) From genetic diversity and structure to conservation: genetic signature of recent population declines in three mouse lemur species (*Microcebus* spp). *Biol Conserv* 141: 1257-1271.
- van Oosterhout C**, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4:535-538.
- Ortego J**, Yannic G, Shafer AB, Mainguy J, Festa-Bianchet M *et al.* (2011) Temporal dynamics of genetic variability in a mountain goat (*Oreamnos americanus*) population. *Mol Ecol* 20:1601-1611.
- Pacheco J** (2005) Bisonte americano, *Bison bison* (Linnaeus, 1758). *Los Mamíferos Silvestres de México*, 505-506.
- Pauls RW** (1995) A ray of hope for the bison. Pp. 203-208 *in* MacEwan G (author) *Buffalo: Sacred and Sacrificed*. Alberta Sport, Recreation, Parks & Wildlife Foundation, Edmonton, Alberta.
- Peden DG**, Van Dyne GM, Rice RW, Hansen RM (1974) The trophic ecology of *Bison bison* L. on shortgrass plains. *J App Ecol* 489-497.
- Pertoldi C**, Wójcik JM, Tokarska M, Kawałko A, Kristensen TN, Loeschcke V, Bendixen C (2010) Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip. *Cons Gen* 11:2 627-634.
- Petit E**, Balloux F, Goudet J (2001) Sex-biased dispersal in a migratory bat: a characterization using sex-specific demographic parameters. *Evolution* 55 635-640.
- Pielou EC** (1992) *After the Ice Age: The Return of Life to Glaciated North America*. University of Chicago Press.

Piganeau G, Eyre-Walker A (2004) A reanalysis of the indirect evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Heredity* 92:282-288.

Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K (2006) CODA: Convergence Diagnosis and Output Analysis for MCMC. *R News* 6:7-11.

Polziehn RO, Strobeck C, Sheraton J, Beech R (1995) Bovine mtDNA discovered in North American bison populations. *Cons Biol* 1638-1643.

Primack R (2001) Problemas de las poblaciones pequeñas. En: Primack R *et al.* (Eds.) Fundamentos de conservación biológica. Fondo de Cultura Económica, México.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.

R Development Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Ramey RR (1991) Evolutionary genetics of mountain sheep in the Owens Valley region: preliminary results from proteins and mitochondrial DNA. In: History of Water: Eastern Sierra Nevada, Owens Valley, White-Inyo Mountains (eds Hall CA Jr, Doyle-Jones V, Widawski B), pp. 268-274, White Mountain Research Station Symposium, Vol. 3, Bishop, CA.

Ramey RR (1995) Mitochondrial DNA variation, population structure, and evolution of mountain sheep in the southwestern United States and Mexico. *Mol Ecol* 4:429-439.

Ramey RR, Luikart G, Singer FJ (2000) Genetic bottlenecks resulting from restoration efforts: the case of bighorn sheep in Badlands National Park. *Rest Ecol* 8:4 85-90.

Raup, DM (1992). Extinction: bad genes or bad luck?. WW Norton & Company.

Reynolds HW, Gates CC, Glaholt RD (2003) *Bison*. Pp 1009-1060 in Feldhammer GA, Thompson BC, Chapman JA (eds.). Wild Mammals of North America. Biology, Management, and Conservation. 2nd edition. London: The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Rhymer JM, Simberloff D (1996) Extinction by hybridization and introgression. *Annu Rev Ecol Syst* 27:83-10.

Rocha M, Gasca J (2007). Ecología molecular de la conservación. En: Eguiarte L, Souza V, Aguirre (Comps), Ecología Molecular. CONABIO. México D.F.

Rodríguez-Rodríguez MA, Gasca-Pineda J, Eguiarte LE (en prensa) Analysis of genetic diversity of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) from Mexican populations. *J Mamm.*

Rorabacher JA (1970) The American Buffalo in Transition: a Historical and Economic Survey of the Bison in America. North Star Press, Saint Cloud, Minnesota.

- Rousset F** (2008) Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour* 8: 103-106.
- Rutley BD**, Hudson RJ (2000) Seasonal energetic parameters of free-grazing bison (*Bison bison*). *Can J Anim Sci* 80:663-671.
- Ryder OA** (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *TREE* 1:9-10.
- Saphiro B**, Drummond AJ, Rambaut A, Wilson MC, Matheus PE, *et al.* (2004) Rise and Fall of the Beringian Steppe Bison. *Science* 306: 1561-1565.
- Sánchez O**, Pineda MA, Benítez H, González H, Berlanga H (1998) Guía de identificación para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la C.I.T.E.S. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F.
- Schwartz MK**, Tallmon DA, Luikart G (1999) DNA-based methods for estimating population size: many methods, much potential, unknown utility. *Anim Conserv* 2:321-323.
- Shaw JH**, Carter TS (1990) Bison movements in relation to fire and seasonality. *Wildlife Soc Bull* 426-430.
- Sheldon C** (1925) The big game of Chihuahua, Mexico. Hunting and Conservation. Yale Univ. Press, New Haven.
- Shivji M**, Clark S, Pank M, Natanson L, Koheler N, Stanhope M (2002) Genetic identification of pelagic shark body parts for conservation and trade monitoring. *Cons Biol* 16:1036-1047.
- Sims P**, Risser P (2000) Grasslands. In Barbour, MG, WD Billings. North American Terrestrial Vegetation. Cambridge University Press. New York.
- Smoliak S**, Peters HT (1955) Climatic effects on foraging performance of beef cows on winter range. *Can J Agric Sci* 35: 213-216.
- Soltis PS**, Gitzendanner MA (1999) Molecular systematics and the conservation of rare species. *Cons Biol* 13:471-483.
- Soulé ME**, Mills LS (1992) Conservation genetics and conservation biology: a troubled marriage. Conservation of biodiversity for sustainable development. Scandinavian University Press, Oslo, 55-69.
- Spielman D**, Brook BW, Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:15261-15264.
- Stahle DW**, Cook ER, Cleaveland MK, Therrell MD, Meko DM, *et al.* (2000) Tree-ring data document 16th century megadrought over North America. *EOST Am Geophys Union* 81: 121-125.

Stewart ST, Butts TW (1982) Horn growth as an index to levels of inbreeding in bighorn sheep. Pages 68-82 in Proceedings, Third Biennial Symposium of the Northern Wild Sheep and Goat Council, Fort Collins, Colorado.

Storz JF, Bhat HR, Kunz TH (2001) Genetic Consequences of Polygyny and Social Structure in an Indian Fruit Bat, *Cynopterus sphinx*. II. Variance in Male Mating Success and Effective Population Size. *Evolution* 55: 1224-1232.

Storz JF, Beaumont MA (2002) Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: An empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution* 56: 154-166.

Tajima F (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics* 123:3 597-601.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 28:2731-2739.

Thompson RW, Turner JC (1982) Temporal geographic variation in the lambing season of bighorn sheep. *Can J Zool* 60:8 1781-1793.

Tucker JM, Schwartz MK, Truex RL, Pilgrim KL, Allendorf FW (2012) Historical and contemporary DNA indicate fisher decline and isolation occurred prior to the European settlement of California. *PLOS ONE* 7:e52803.

Turner JC (1979) Osmotic fragility of desert bighorn sheep red blood cells. *Comp Biochem Physiol* 64:167-175.

Towne EG (1999) Bison performance and productivity on tallgrass prairie. *Southwestern Nat* 44:361-366.

Valdez R (1988) Wild sheep and wild sheep hunters of the New World. Wild Sheep and Goat International, Mesilla, New Mexico, USA.

Valdez R, Krausman P (1999). *Mountain sheep of North America*. University of Arizona Press.

Van Vuren (1983) Group dynamics and summer home range of bison in southern Utah. *J. Mamm* 64: 329-332.

Vaughan TA, Ryan JM, Czaplewski NJ (2000) Mammology. Fourth Edition. Saunders College Publishing.

Villa R (1959) Estado que guarda a actualmente la población de borregos silvestres en el territorio de México. En Memoria de la Segunda Convención Natural Forestal. Secretaría de Agricultura, México D.F.

Walker EP, Warnick F, Lange IK, Uible HE, Hamlet SE, Davis MA, Wright PF (1964) Order Artiodactyla "Mammals of the World" Volume II The Johns Hopkins Press, Baltimore USA.

Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991) Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506-513.

Wang J (2005) Estimation of effective population sizes from data on genetic markers. *Philos Trans R Soc B* 360: 1395-1409.

Ward TJ, Bielawski JP, Davis SK, Templeton JW, Derr JN (1999) Identification of domestic cattle hybrids in wild cattle and bison species: a general approach using mtDNA markers and the parametric bootstrap. *Animal Cons* 2:1 51-57.

Ward, TJ, Skow LC, Gallagher DS, Schnabel RD, Nall CA, Kolenda CE, Derr JN (2001) Differential introgression of uniparentally inherited markers in bison populations with hybrid ancestries. *Animal Genet* 32:2 89-91.

Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.

Wehausen JD, Ramey RR (2000). Cranial morphometric and evolutionary relationships in the northern range of *Ovis canadensis*. *J Mamm* 81:1 145-161.

Whittaker DG, Ostermann SD, Boyce WM (2004) Genetic variability of reintroduced California bighorn sheep in Oregon. *J Wildl Manag* 68:850-859.

Wilder BT, Betancourt JL, Epps CW, Crowhurst RS, Mead JI, Ezcurra E (2014) Local Extinction and Unintentional Rewilding of Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) on a Desert Island. *PloS ONE* 9:3 e91358.

Wilson DE, Sue R (1999) The Smithsonian Book of North American Mammals.

Wilson DE, Reeder DM (2005) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (Vol. 1). JHU Press.

Woodhouse CA, Overpeck JT (1998) 2000 years of drought variability in the central United States. *B Am Meteorol Soc* 79: 2693-2714.

Wright S (1931) Evolution in Mendelian Populations. *Genetics* 16: 97-159.

Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

Wyckoff DG, Dalquest WW (1997) From whence they came: the paleontology of southern plains bison. *The Plains Anthropologist* 5-32.

Zontek K (1995) Hunt, capture, raise, increase: the people who saved the bison. *Great Plains Quart* 15:133-149.

Apéndice

Protocolos

Apéndice P.1 Protocolo de extracción usando resina Chelex

Protocolo de extracción de ADN para muestras de pelo usando resina CHELEX.

Es recomendable usar de 15 a 20 pelos por extracción, no obstante pueden usarse menos (hasta 1).

1. Cortar el pelo lo más cercano posible a la raíz, de preferencia **no dejar más de 5mm de pelo.**
2. Colocar las raíces en un tubo con **100ul de solución CHELEX al 5%** (g/ml).
3. Agregar **15ul de proteinasa K (PK)** a 10mg/ml.
4. Agregar **5ul** de solución de **DTT 0.5M**.
5. Incubar a **61°C por 4 hrs** con agitación periódica (1 min a 1,000 rpm cada 5 mins).
6. Verificar que la solución **no contenga sólidos visibles**, de lo contrario agregar más PK e Incubar hasta que el pelo se disuelva por completo.
7. Incubar a **95°C por 10 min**, vortex suave cada 2 min.
8. Colocar en **hielo durante 10 min**.
9. Centrifugar por **3 min a 10,000 rpm**.
10. Tomar el sobrenadante cuidando de **no tocar el precipitado** y colocar en un tubo nuevo. NOTA: la resina CHELEX inhibe la reacción de PCR, en caso de haberla tomado accidentalmente, regresar el sobrenadante y repetir desde el paso 9.

Precipitación del ADN

1. Agregar **7ul de EDTA** 125mM (pH 8.4).
2. Agregar **7ul de NaOAc** 3M (pH 5.2).
3. Añadir **180ul de alcohol** al 100%.
4. Vortex e incubar a **temperatura ambiente por 15 min**.
5. Centrifugar a **14,000 rpm por 15 min**.
6. Desechar el alcohol y dejar secar. NOTA: Es importante que no queden rastros de alcohol.
7. Resuspender en 35ul de agua ultra pura.

Apéndice P.2 Secuencias y condiciones de amplificación de la región control mitocondrial

Secuencias de los marcadores para la amplificación de la región control mitocondrial

		Referencia
Mit_F1	Fwd5' AAC-CTC-CCT-AAG-ACT-CAA-GG	Boyce <i>et al.</i> 1999
R1_435	Rev5'CRGGATACGCATGTTGACTRGRAC	Este estudio
F2_144	Fwd5'AAARCACACCAAYCCACCCACGGAC	Este estudio
R2_529	Rev5'ACAATGAATGGGCCCCGGAGCGA	Este estudio

Protocolo de PCR para la amplificación de la región control mitocondrial

Las condiciones para los pares de primers Mit_F1-R1_435, y F2_144-R2_529, fueron: 3 min a 94°C como paso de desnaturalización inicial, 30 ciclos de 30s a 94°C como desnaturalización, 45s a 54 °C de alineación, 2 mins de 72 °C de extensión, y un periodo final de extensión por 7 min a 72°C.

Apéndice P.3 Secuencias, condiciones de amplificación y características de los microsatélites amplificados.

Información de los microsatélites usados en el presente trabajo

Locus	Cromosoma en <i>O. aries</i>	Primer sequence	Referencia
<i>OarFCB266</i>	25	Fwd_5'GGCTTTTCCACTACGAAATGTATCCTCAC Rev_5'CACCACATACCAAACACACAGCCTGC	Crawford <i>et al.</i> 1994
<i>OarFCB128</i>	2	Fwd_5'ATTAAAGCATCTTCTCTTTATTTCTCGC Rev_5'CAGCTGAGCAACTAAGACATACATGCG	Crawford <i>et al.</i> 1994
<i>MAF48</i>	5	Fwd_5'TCACTAAACCAGGGGCGG Rev_5'GAGGCAGGCAAATCAGAAC	Kappes <i>et al.</i> 1997
<i>MAF36</i>	22	Fwd_5'CATATACCTGGGAGGAATGCATTACG Rev_5'TTGCAAAAGTTGGACACAATTGAGC	Crawford <i>et al.</i> 1995
<i>BM848</i>	15	Fwd_5'TGGTTGGAAGGAAAACCTTGG Rev_5'CCCTCTGCTCCTCAAGACAC	Crawford <i>et al.</i> 1995
BM1818	20	Fwd_5'AGCTGGGAATATAACCAAAGG Rev_5'AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	Bishop <i>et al.</i> 1994
<i>MAF209</i>	17	Fwd_5'TCATGCACITAAGTATGTAGGATGCTG Rev_5'GATCACAAAAAGTTGGATACAACCGTGG	Buchanan y Crawford 1992
D16S3	12	Fwd_5'GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA Rev_5'ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	Crawford <i>et al.</i> , 1995
<i>BM2113</i>	2	Fwd_5'GCTGCCTTCTACCAAATACCC Rev_5'CTTCTGAGAGAAGCAACACC	Crawford <i>et al.</i> , 1995

<i>D12S4</i>	12	Fwd_5'CCTTTCAAAAACACGGAAATTCGGGGG Rev_5'CTTCAGGCATACCCTACACCACATG	Kappes <i>et al.</i> 1997
<i>AGLA293</i>	3	Fwd_5'GAAACTCAACCCAAGACAACCTCAAG Rev_5'ATGACTTTATTCTCCACCTAGCAGA	Crawford <i>et al.</i> 1995
<i>MGTG4B</i>	4*	Fwd_5'GAGCAGCTTCTTTCTTTCTCATCTT Rev_5'GCTCTTGGAAAGCTTATTGTATAAAG	Steffen y Eggen 1993

* Cromosoma reportado para *Bos taurus*.

Condiciones de amplificación para los microsatélites de bóvidos.

Protocolo corto, volumen final de 10ul:

	Conc. MgCl ₂	Temp Aln.	Primer (10 mM)	Rango en pb.	Fluoróforo	Notas
<i>OarFCB128</i>	1mM	60 °C	0.3 ul c/u	108 - 120	NED	
<i>OarFCB266</i>	1mM	58 °C	0.3 ul c/u	85 - 101	VIC	
<i>BM848</i>	3mM	55 °C	0.4 ul c/u	219 - 237	VIC	Aumentar a 33 seg el tiempo de alineación
<i>BM1818</i>	3mM	55 °C	0.4 ul c/u	257 - 273	NED	Aumentar a 33 seg el tiempo de alineación
<i>MAF36, MAF48, MAF209</i>	1mM	56 °C	0.2 ul c/u	93 - 109 120 - 134 109 - 123	VIC FAM PET	Susceptibles a dímeros el tiempo de alineación de 27 segs y no más de 33ciclos.
<i>OMHC1</i>	2mM	57 °C	0.3 ul c/u	185 - 207	FAM	En general con mucho producto inespecífico NO combinar con otros con FAM
<i>D16S3</i>	2mM	58 °C	0.2 ul	156 - 184		También conocido como TGLA53
<i>D12S4</i>	3mM	56 °C	0.2 ul	120 - 180		También conocido como INRA005
<i>BM2113</i>	1 mM	56 °C	0.2 ul	125 - 145		

Protocolo largo volumen final de 10ul:

	Conc. MgCl ₂	Temp Aln.	Primer (10 mM)	Rango en pb.	Fluoróforo	Notas
<i>OLADRB1</i>	2mM	64 °C	0.3 ul c/u	265 - 283	FAM	

<i>AGLA293</i>	1mM	56 °C	0.2 ul	200 - 247	FAM	Amplificación muy limpia
<i>MGTG4B</i>	2mM	56 °C	0.2 ul c/u	134 - 164	FAM	Amplificación muy limpia
<i>ETH225</i>	2mM	58 °C	0.2 ul	155 - 168	FAM	Bastante ruido en sus picos

Protocolo corto

94 °C 5 min

94 °C 15 seg
var 27-33 seg
72 °C 1 seg

72 °C 10 min

Protocolo largo

94 °C 15 min

94 °C 45 seg
var 45 seg
72 1 min

72 10 min

Los productos fueron visualizados en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio. El análisis de los fragmentos fue llevado a cabo en un secuenciador automático ABI 3100 en reacciones de 10µl con 9.25 µl de formamida desionizada, 0.25 µl de GeneScan™ 600 LIZ® Size Standard (Applied Biosystems), y 0.5-2 µl de producto de PCR.

Apéndice P.4 Protocolos de extracción de ADN

Protocolo para la extracción de **hueso** usando Kit de Quiagen).

Consideraciones previas:

Es importante llevar a cabo la pulverización del hueso en espacios donde no exista riesgo de contaminación por productos de PCR. Es recomendable usar una herramienta de baja velocidad (Apéndice). Todos los instrumentos deben ser esterilizados entre cada muestra, por lo que es recomendable tener varios "juegos". La cantidad necesaria de polvo a colectar va a variar dependiendo del organismo, así como de la parte del esqueleto que se use, la cantidad recomendable para empezar es de alrededor de 25 mg. Usar vortex en baja velocidad cuando sea posible. Destinar un tubo por cada 10 muestras como control negativo.

1. Pulverizar el hueso y colectar el polvo en un tubo eppendorf de 1.5ml.
2. Agregar **500ul** de solución **PBS** (8 g NaCl, 0.2g KCl, 1.44g Na₂HPO, 0.24 KH₂PO₄, aforar en 800ml, ajustar pH a 7.4, esterilizar) a la muestra, vortex por 15 seg, y centrifugar 3 min a 10,000 rpm.
3. Vaciar con cuidado el sobrenadante.
4. Agregar **500ul de EDTA 0.5M** (estéril, pH 8.4), agitar en vortex hasta suspender, pueden usarse palillos de madera previamente esterilizados para ayudar a suspender.
5. Incubar a **37°C**, cambiar el **EDTA** aproximadamente cada **8hrs**. La muestra se centrifuga a **4,5000 rpm por 15min**, se retira el sobrenadante cuidando de no

- perder el pellet, se agregan **500ul de EDTA fresco** y suspender la muestra nuevamente.
6. EL proceso se repite **por al menos 48hrs**, el **EDTA** debe **cambiarse** al menos **5 veces** durante ese periodo.
 7. Centrifugar nuevamente a **4,500 rpm** desechar el EDTA y **agregar 200ul de agua** bidestilada estéril, **NO vortex**, desechar el agua.
 8. Repetir una vez más el paso anterior y remover el agua con una pipeta cuidando de no tocar el pellet.
 9. Agregar **500ml** de solución de **lisis de Pääbo** (0.01M TrisHCl pH 8.0, 0.01M EDTA pH 8.4, 0.1M NaCl, 0.039M DTT, 2% SDS, 50 mg/ml Proteinasa K).
 10. Sellar el tubo, incubar a **55°C toda la noche** con vortex periódicamente, agregar **15ul de proteinasa K** (10mg/ml) y **10 ul de DTT 0.5M** y continuar la digestión hasta que la solución sea translúcida, es normal que adquiera una coloración blanquizca, pero debe observarse casi transparente. Si la solución tiene un aspecto opaco continuar la incubación y agregar **15ul de proteinasa** y **10 ul de DTT** cada 12 hrs.
 11. Agregar **200ul de buffer AL**, incubar a 70°C por 10min.
 12. Agregar **200ul de etanol al 100%**, homogeneizar pipeteando suavemente y aplicar la solución a la columna.
 13. Centrifugar a **8,000 rpm por 1 min**, desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.
 - Nota: En el 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,
 14. Colocar la columna en un tubo de colecta nuevo, agregar **500ul** de buffer **AW1Wash** y centrifugar a **8,000 rpm por 1 min**, desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.
 15. Agregar **500ul** 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.
 16. Centrifugar a **14,000 rpm por 1 min** y desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.
 17. 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.
 18. Eluir el DNA con **50ul de buffer AE** precalentado a **65°C**, incubar la columna a TA por 10 min y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min.
 19. Reaplicar la solución con el DNA a la columna, incubar 3 min a TA y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min.
 20. Puede llevarse a cabo una segunda elución repitiendo los pasos |8-19, aunque ésta llevará una cantidad menor de DNA.
 21. Hacer alícuotas y almacenar la solución con el DNA.

Notas y sugerencias

Sugerencias para el proceso de pulverización del hueso

Las extracciones se han llevado a cabo satisfactoriamente usando la herramienta Dremel Multipro 395 usando discos de corte de 15/16" No. 420 (se usan para cortar tubos) con la menor velocidad posible. Lo anterior es recomendable ya que altas velocidades provocarán que el hueso se caliente demasiado, además de que el polvo saldrá disparado para todos lados.

Es recomendable forrar la herramienta con plástico para envolver sandwiches para evitar contaminación cruzada entre muestras, de tal manera que deberá cambiarse entre cada muestra. Nota: esto va a provocar que la herramienta se caliente, por lo que es importante permitir que se enfríe por lo menos 10 minutos entre cada muestra.

El polvo puede colectarse fácilmente en cuadros de papel aluminio de 15x15cm, previamente esterilizados.

Todas las partes deben limpiarse cuidadosamente entre cada muestra con agua y jabón, las partes plásticas además con cloro y las metálicas deberán deflamearse.

Protocolo para la extracción de **tejido de museo** o desecados usando Kit de Quiagen.

Consideraciones previas:

El ADN obtenido a partir de tejido de museo en general va a estar muy degradado y muy probablemente 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 homogeneización 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 de aprox 5x5mm, colocarlo en un tubo eppendorf de 1.5ml, cortarlo en trozos más pequeños.
2. Agregar 1ml de agua bidestilada estéril, vortex por 15 seg, remover el agua, repetir una vez más, si el tejido está demasiado sucio repetir hasta que el agua no se enturbie.
3. Para hidratar el tejido, agregar **1ml** de solución **PBS** (8 g NaCl, 0.2g KCl, 1.44g Na₂HPO₄, 0.24 KH₂PO₄, aforar en 800ml, ajustar pH a 7.4, esterilizar), vortex por 15 seg, sellar el tubo con parafilm y dejar reposando a **55°C** toda la noche.
4. Examinar que la textura del tejido sea suave (debe observarse un incremento en su volumen debido a la hidratación), de lo contrario, desechar el PBS y agregar nuevo. Dejar incubando hasta que el tejido quede completamente hidratado. Nota si el PBS se encuentra turbio desecharlo y cambiarlo hasta que sea transparente.
5. De ser posible, cortar el tejido en pedazos aún más pequeños y colocarlos en un tubo nuevo.
6. Agregar **500ul** de solución de **lisis de Pääbo** (0.01M TrisHCl pH 8.0, 0.01M EDTA pH 8.4, 0.1M NaCl, 0.039M DTT, 2% SDS, 50 mg/ml Proteinasa K).
7. Agregar **10ul** de **proteínasa K** (10mg/ml) y **10ul 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 **10ul** de **proteínasa K** (10mg/ml) y **5ul de DTT 0.5M** y continuar la digestión hasta que la solución **no tenga sólidos visibles**.
8. Agregar **200ul de buffer AL** y **200ul 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 el 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 500ul de buffer **AW1 wash** y centrifugar a **8,000 rpm por 1 min**, desechar el tubo de colecta junto con lo centrifugado.
 11. Agregar 500ul 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 1 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 DNA con **50ul 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 DNA 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 esta solución tendrá una cantidad menor de DNA, 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 DNA.

Protocolo extracción DNA de sangre de mamíferos usando el kit de Qiagen.

1. Tomar de 50 a 100ul de sangre **no coagulada** (usar soluciones de potasio como anticoagulante).
2. Llevar el volumen a **220ul con PBS** estéril (8g NaCl, 0.2g KCl, 1.44g Na₂HPO₄, 0.24g KH₂PO₄, aforar en 800 ml, ajustar el pH a 7.4, esterilizar).
3. Agregar **20ul de proteinasa K**.
4. Homogeneizar usando vórtex.
5. Agregar **200ul de Buffer AL** sin etanol, homogeneizar nuevamente e incubar a 56°C por 10 min. Es importante que la mezcla sea homogénea.
6. Agregar 200ul de etanol al 100%. Homogeneizar una vez más con vórtex.
7. Aplicar la solución a la columna.
8. Centrifugar a 8,000 rpm por 1 min, desechar el tubo de colecta.
9. Colocar la columna en un tubo de colecta nuevo, agregar **500ul de Buffer AW1 wash** y centrifugar a 8,000 rpm por 1 min. Descartar el tubo de colecta.
10. Usar un tubo de colecta nuevo, agregar **500ul de Buffer AW2 wash** y centrifugar a 14,000 rpm por 3 min. Descartar el tubo de colecta. La columna no debe entrar en contacto con los desechos del buffer, si esto ocurre, vaciar y secar con una sanita el tubo de colecta, colocar la columna nuevamente y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min.
11. Colocar la columna en un tubo nuevo y etiquetado de 1.5 ml, es necesario cortar la tapa del tubo, por lo que es recomendable etiquetar tanto el tubo como la tapa.
12. Eluir el DNA con **100 ul de buffer AE** precalentado a 65°C, incubar la columna a TA por 3 min y centrifugar a 14,000.
13. Reaplicar y hacer soluciones diluídas.
14. Refrigerar o congelar las muestras.

Información suplementaria

Apéndice S.1. Números de acceso de las secuencias usadas en el análisis filogenético (Figura 2.5)

Especie (Raza de ganado o nombre común)	Clave secuencia	Número de acceso	Lugar de Origen	Referencia
<i>Bos indicus</i> (Gyr breed)	BindiGY18	FJ815919	México	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos indicus</i> (Brahman breed)	BindiBRA3	FJ815915	México	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos indicus</i> (Brahman breed)	BindiBRAH	FJ815902	México	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Aberdeen Angus)	Btau_AAA42	FJ815950	Argentina	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Rikaze)	Btau_AK11	EU281476	China	Jia <i>et al.</i> 2010
<i>Bos taurus</i> (Bulgarian Grey cattle)	Btau_BGC41	KF373016	Bulgaria	Lenstra <i>et al.</i> 2014
<i>Bos taurus</i> (British White Cattle)	Btau_BWC15	FJ815985	E.U.A.	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (British White Cattle)	Btau_BWC12	FJ815981	E.U.A.	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Criollo Baja California)	Btau_CBC08	FJ815737	México	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Charolais)	Btau_CHAR9	FJ815862	Portugal	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Saavedreno Bolivian Creole)	Btau_CSa1l	JQ014663	Bolivia	Liron <i>et al.</i> 2011
<i>Bos taurus</i> (Yacumeno Creole)	Btau_CYa1q	JN382558	Argentina	Liron <i>et al.</i> 2011
<i>Bos taurus</i> (Uruguayan Creole)	Btau_Cur4a	JQ070349	Uruguay	Liron <i>et al.</i> 2011
<i>Bos taurus</i> (Friesian)	Btau_FRI11	FJ815875	Portugal	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Friesian)	Btau_FRI123	FJ815872	Portugal	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Friesian)	Btau_FRI12	FJ815879	Portugal	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Hereford)	Btau_HEN44	FJ815965	USA	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Jutland)	Btau_Jutl3	HM626093	Finlandia	Bruniche-Olsen 2010
<i>Bos taurus</i> (Texas Longhorn)	Btau_LHNC2	FJ815844	USA	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Limousin)	Btau_LM784	FJ815886	Portugal	Ginja <i>et al.</i> 2009

<i>Bos taurus</i> (Mongolian native)	Btau_M7	AB117066	Mongolia	Mannen <i>et al.</i> 2004
<i>Bos taurus</i> (Chinese cattle)	Btau_Qin17	AY902395	China	Lai <i>et al.</i> 2006
<i>Bos taurus</i> (Red danish)	Btau_RedD	HM626042	Finlandia	Bruniche-Olsen 2010
<i>Bos taurus</i> (Shorthorn)	Btau_SH17	FJ816006	USA	Ginja <i>et al.</i> 2009
<i>Bos taurus</i> (Shorthorn Rhodopean)	Btau_SRC41	KF373025	Bulgaria	Lenstra <i>et al.</i> 2014
<i>Bos taurus</i> (Tibet)	Btau_TB2	EU281506	China	Jia <i>et al.</i> 2010
<i>Bos taurus</i> (Tibetan Yellow)	Btau_TSC30	AY378120	China	Xuebin <i>et al.</i> 2003.
<i>Bubalus bubalis</i> (DianDongNan)	Bubalus	GQ260314	China	Yue <i>et al.</i> 2003
<i>Bison bison</i> (Bisonte)	Chapultepec	-	Origen desconocido, posiblemente Yellowstone National Park	Este estudio
<i>Syncerus caffer</i> (Búfalo africano)	Syncerus	EF536353	Africa	Hassanin <i>et al.</i> 2012
<i>Ovis canadensis</i> <i>canadensis</i> (Borrego cimarrón de montaña)	Ovis_canadensis	AY091486	Canadá	Hiendleder 2013

Apéndice S.2 Condiciones de las corridas con los programas MSVAR v4 y v1.3

El software corrió por 2×10^9 pasos registrando un total de 20,000 puntos para la distribución posterior. Los límites para los parámetros θ , r , y t_f fueron $(-5, 2)$, $(-5.5, 1.5)$, y $(-1, 1)$, respectivamente. Los límites para r incluyen tanto expansión como decline poblacional. Para el software MSVAR v1.3, el número de pasos así como el número de puntos registrados fueron los mismos, la medias y varianzas de *Nstbl*, *Ncrnt* y *Tfa* fueron $(4, 2.25)$, $(4, 2.25)$, $(5, 2.5)$; para cada corrida, éstos valores fueron modificados aleatoriamente, así recomendado por los autores. Después de comprobar la convergencia de la cinco corridas, se tomó la segunda mitad de cada una y se combinaron para producir un archivo de salida de 50,000 puntos.

Apéndice S.3. Datos de variación genética por locus para la población de Isla Tiburón.

Estadísticos de resumen por locus

Locus	n_a	H_o	H_E	F_{IS}
<i>OarFCB266</i>	3	0.150	0.247	0.395**
<i>OarFCB128</i>	2	0.396	0.501	0.210
<i>MAF48</i>	2	0.274	0.238	-0.150
<i>MAF36</i>	3	0.306	0.339	0.098
<i>BM848</i>	7	0.677	0.738	0.083

<i>BM1818</i>	4	0.633	0.619	-0.023**
<i>MAF209</i>	5	0.573	0.591	0.0298
<i>D16S3</i>	2	0.492	0.479	-0.0273
<i>BM2113</i>	3	0.508	0.479	-0.0598
<i>D12S4</i>	3	0.583	0.623	0.0643
<i>AGLA293</i>	3	0.491	0.585	0.1608
<i>MGTG4B</i>	3	0.580	0.576	-0.0073

Media 3.333 0.472 0.501
d.s. 1.435 0.159 0.155

**valor significativo, $p < 0.05$

Tamaños alélicos y frecuencia de los loci

<i>Locus</i>	<i>Peso</i>	<i>Frecuen</i>	<i>Locus</i>	<i>Peso</i>	<i>Frecuencia</i>
	<i>o pb</i>	<i>cia</i>		<i>pb</i>	
OarFCB266	87	0.137	MAF209	107	0.429
	97	0.008		109	0.071
	99	0.855		111	0.024
				113	0.468
OarFCB128	108	0.516		115	0.008
	110	0.484	D16S3	134	0.388
MAF48	118	0.148		138	0.612
	122	0.852			
			BM2113	142	0.621
MAF36	85	0.812		146	0.371
	99	0.141		148	0.008
	101	0.047			
			D12S4	153	0.151
BM848	221	0.069		155	0.476
	229	0.038		157	0.373
	231	0.331			
	233	0.154	AGLA293	198	0.302
	235	0.008		200	0.556
	237	0.038		202	0.143
	239	0.361			
			MGTG4B	114	0.328
BM1818	253	0.217		120	0.117

La estimación del valor del parámetro se llavó acabo usando el paso de rechazo seguido de una regresión con los escenarios que presentaron la distancia euclidiana de los estadísticos de resumen más pequeña con respecto a los observados. Adicionalmente, se inspeccionó de manera visual la posición del valor real de los esatdísticos de resumen en la distribución de los estadísticos de resumen de las simulaciones seleccionadas para la estimación de los parámetros.

Apéndice S.7. Datos de variación genética por locus para las poblaciones de Sonora y BCS

Locus	Sonora			BCS			Total		
	na	HE	HO	na	HE	HO	na	HE	HO
<i>OarFCB128</i>	2	0.481	0.378	2	0.119	0.065	2	0.495	0.291
<i>MAF48</i>	4	0.371	0.331	2	0.012	0.012	5	0.500	0.252
<i>MAF36</i>	4	0.314	0.333	3	0.124	0.108	5	0.274	0.279
<i>BM848</i>	7	0.749	0.692	4	0.383	0.371	7	0.777	0.596
<i>BM1818</i>	3	0.558	0.532	3	0.622	0.218	5	0.579	0.460
<i>MAF209</i>	5	0.615	0.565	2	0.329	0.186	5	0.564	0.458
<i>D16S3</i>	2	0.471	0.441	2	0.043	0.044	2	0.404	0.334
<i>BM2113</i>	7	0.558	0.526	5	0.594	0.480	8	0.731	0.519
<i>D12S4</i>	5	0.581	0.622	4	0.587	0.606	6	0.743	0.585
<i>AGLA293</i>	3	0.549	0.620	2	0.099	0.040	3	0.580	0.411
<i>MGTG4B</i>	5	0.578	0.572	3	0.097	0.034	6	0.590	0.439

Apéndice S8. Líneas de comando básicas de R para el análisis de los resultados de MSVAR. Nótese que se asume que las repeticiones tienen el nombre “UNO”, “DOS”, “TRES”, “CUATRO”, “CINCO”, las columnas corresponden a los parámetros reportados por los autores del software.

```
###Cargamos las librerías necesarias, en caso de no tenerlas:
install.packages("coda")
library(coda)
library(locfit)
###Abrimos los archivos, en este ejempl se asumen 5 repeticiones con 20,000 líneas
UNO <- read.table("../UNO/hpars.dat", sep="", dec=".", header= FALSE)
DOS <- read.table("../DOS/hpars.dat", sep="", dec=".", header= FALSE)
TRES <- read.table("../TRES/hpars.dat", sep="", dec=".", header= FALSE)
CUATRO <- read.table("../CUATRO/hpars.dat", sep="", dec=".", header= FALSE)
CINCO <- read.table("../CINCO/hpars.dat", sep="", dec=".", header= FALSE)
####Observa los valores y el gráfico para asegurar convergencia de N0
MCMC.1 <- mcmc(UNO$V4)
MCMC.2 <- mcmc(DOS$V4)
MCMC.3 <- mcmc(TRES$V4)
MCMC.4 <- mcmc(CUATRO$V4)
MCMC.5 <- mcmc(CINCO$V4)
MCMC.N0 <- mcmc.list (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3 , MCMC.4 , MCMC.5 )
```

```

rm (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3, MCMC.4 , MCMC.5 )
gelman.diag (MCMC.N0)
gelman.plot (MCMC.N0 )
####Observa los valores y el gráfico para asegurar convergencia de N1
MCMC.1 <- mcmc(UNO$V6)
MCMC.2 <- mcmc(DOS$V6)
MCMC.3 <- mcmc(TRES$V6)
MCMC.4 <- mcmc(CUATRO$V6)
MCMC.5 <- mcmc(CINCO$V6)
MCMC.N1 <- mcmc.list (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3, MCMC.4 , MCMC.5 )
gelman.diag (MCMC.N1 )
gelman.plot (MCMC.N1 )
rm (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3, MCMC.4 , MCMC.5 )
####Observa los valores y el gráfico para asegurar convergencia de Tfa
MCMC.1 <- mcmc(UNO$V10)
MCMC.2 <- mcmc(DOS$V10)
MCMC.3 <- mcmc(TRES$V10)
MCMC.4 <- mcmc(CUATRO$V10)
MCMC.5 <- mcmc(CINCO$V10)
MCMC.Tfa <- mcmc.list (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3, MCMC.4 , MCMC.5 )
rm (MCMC.1 , MCMC.2 , MCMC.3, MCMC.4 , MCMC.5 )
gelman.diag (MCMC.Tfa )
gelman.plot (MCMC.Tfa )
### Seleccionamos la segunda mitad del las cinco corridas y las juntamos en un
archivo, para cada parámetro
Alberta.N0<- c(UNO$V4 [10000:19999], DOS $V4 [10000:19999], TRES $V4
[10000:19999], CUATRO $V4 [10000:19999], CINCO $V4 [10000:19999])
Alberta.N1 <- c(UNO$V6 [10000:19999], DOS $V6 [10000:19999], TRES $V6
[10000:19999], CUATRO $V6 [10000:19999], CINCO $V6 [10000:19999])
Alberta.Tfa <- c(UNO$V10 [10000:19999], DOS $V10 [10000:19999], TRES $V10
[10000:19999], CUATRO $V10 [10000:19999], CINCO $V10 [10000:19999])
### Le avisamos a R que es un "dataframe"
Alberta.N0 <- data.frame (Alberta.N0)
Alberta.N1 <- data.frame (Alberta.N1)
Alberta.Tfa <- data.frame (Alberta.Tfa)
### Escribimos en un archivo los resultados
write.table(Alberta.N0, file="Alberta.N0", sep="", dec=".", quote=FALSE,
append=FALSE, col.names= FALSE, row.names=FALSE)
write.table(Alberta.N1, file="Alberta.N1", sep="", dec=".", quote=FALSE,
append=FALSE, col.names= FALSE, row.names=FALSE)
write.table(Alberta.Tfa, file="Alberta.Tfa", sep="", dec=".", quote=FALSE,
append=FALSE, col.names= FALSE, row.names=FALSE)

```

Apéndice S9 .Líneas de comando básicas de R para generar los gráficos presentados en el artículo.

```

#Gráficos de alta resolución.
###Fig tamaños efectivos
library (gplots)
png(filename="Fig3HR",width=3556, height=1981, res=300)
plotCI(Ancest.Size$Ancest.Size , ui=Ancest.upp$Ancest.upp

```

```

,li=Ancest.low$Ancest.low , gap=0, type="p", pch=0 ,ylab="Inbreeding Effective
Size (log10)", ylim=c(1,5.5),xlab="" , xaxt="n")
par(new=TRUE)
plotCI(Current.Size$Current.Size , ui=Current.upp$Current.upp
,li=Current.low$Current.low , gap=0, type="p", pch=15, ylab="",
ylim=c(1,5.5),xlab="" , xaxt="n", yaxt="n")
axis (side=1, at=1:13,
labels=c("TI", "RRNM", "SRA", "HMO", "JDO", "LGO", "SMO", "SRN", "SUH", "WCNP", "YNP", "HWCH"
, "MNWSA"), cex.axis=0.9, font.axis=2)
legend("topleft", pch=c(0,15),legend=c(expression(paste(" ",
N[stbl])),expression(paste(" ", N[crnt]))))

#Ver 2
mtext ("Desert", side=1, line=2.3, at=1.5)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=1.5)
mtext ("Mountain", side=1, line=2.3, at=3)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=3)
mtext ("Californian", side=1, line=2.3, at=6)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=6)
mtext ("Bison", side=1, line=2.3, at=10)
mtext ("Muntjac", side=1, line=2.3, at=12)
mtext ("Oryx", side=1, line=2.3, at=13)

#Ver 3
abline (v=2.5, lty=3, col="gray")
abline (v=3.5, lty=3, col="gray")
abline (v=8.5, lty=3, col="gray")
abline (v=11.5, lty=3, col="gray")

dev.off ()

#####Plot TFA, fig.3####

#ingreso de los datos VERSION GRANDE
Tfa.Modes <- c(3.499022, 3.506745, 3.268761, 3.469933, 3.2874027, 3.178591 ,
3.147369 , 3.149092,2.643667, 2.864354,3.255912,3.178555,4.073248)
Tfa.Modes <- data.frame(Tfa.Modes)
Tfa.low <- c(3.181, 2.9355 ,2.8594, 3.0777, 2.8602, 2.6811, 2.7512 ,2.6994 ,
2.1473, 2.4211, 2.8223, 2.785, 3.557)
Tfa.low <- data.frame(Tfa.low)
Tfa.upp <- c(3.787, 3.7587, 3.5387, 3.7162, 3.5035, 3.3940, 3.4403, 3.4010,2.9012,
3.0897, 3.4960, 3.383, 4.385)
Tfa.upp <- data.frame (Tfa.upp)

#para el gráfico
png(filename="Fig4HR",width=3556, height=1981, res=300)
library (gplots)
plotCI(Tfa.Modes$Tfa.Modes, ui=Tfa.upp$Tfa.upp,li=Tfa.low$Tfa.low, gap=0,
type="p", pch=5, ylab="Time of population size change Tfa (log10 years)",
ylim=c(1,5),xlab="" , xaxt="n")
axis (side=1, at=1:13,
labels=c("TI", "RRNM", "SRA", "HMO", "JDO", "LGO", "SMO", "SRN", "SUH", "WCNP", "YNP", "HWCH"

```



```

,"MNWSA"), cex.axis=0.9, font.axis=2)

#Para agregar las líneas que indican eventos
abline (h=2.6, lwd=1.5, lty=3)
abline (h=2.75, lwd=1.5, lty=4)
abline (h=3.6, lwd=1.5, lty=2)
abline (h=4.041393, lwd=1, lty=1 )

###Leyenda de las líneas
legend(0.5,4.925, bty="n", lty=c(1,2,4,3), lwd=1.5 , cex=.9, legend=c("Younger
Dryas: 11,000 years ago","Late Holocene droughts: 4,500 years ago", "First hunting
pressures: 550 years ago", "Introduction of horses: 150 years ago"))
legend(0.69,5.045, bty="n", pch=5, cex=.9,legend=" Tfa")

### Nombres de las especies y subs
mtext ("Desert", side=1, line=2.3, at=1.5)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=1.5)
mtext ("Mountain", side=1, line=2.3, at=3)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=3)
mtext ("Californian", side=1, line=2.3, at=6)
mtext ("bighorn sheep", side=1, line=3.3, at=6)
mtext ("Bison", side=1, line=2.3, at=10)
mtext ("Muntjac", side=1, line=2.3, at=12)
mtext ("Oryx", side=1, line=2.3, at=13)

dev.off ()

###FIGURA 2 NEW
#para juntar los gráficos
png(filename="Fig2HR_Corr",width=3556, height=1981, res=300)
layout(matrix(1:2,1,2))

#Ver 2
library (gplots)
par(mar=c(5,4,4,5)+.1)
plotCI (He.s$He.s, uiw=stderr.He$HE_sd, gap=0, type="l",
ylab=expression(paste("Expected heterozygosity")), ylim=c(0.425,0.535),
xaxt="n",xlab="")
par(new=TRUE)
plotCI (Na.s$Na.s, uiw=Ale.sterr$Ale.sterr, gap=0, type="p", pch=17,
xaxt="n",yaxt="n", ylim=c(0,4.9), xlab="", ylab="")
axis(4)
axis (1, at=1:6, labels=c("Sonora", "TI", "64", "32", "16", "8"))
mtext ("(Simulated)", side=1, line=2, at=1.5)
mtext("Mean number of alleles", side=4, line=2.5)
mtext ("Number of founders from TI", side=1, line=1.8, at=4.5)
legend("topright",col=c("black","black"),lty=c(1,5),
pch=c(1,17),legend=c(expression(H[E]), expression(n[a])))
par(new=TRUE)
plot(Na.s$Na.s, type="l", lty=5, xaxt="n",yaxt="n", ylim=c(3,4.9), xlab="",
ylab="")
text(1,4.89,labels="A",cex=1.8)

```

```

###Plot adicional de la pérdida de Ne
##ingreso datos
NeFOUNDERS <- c(2.69, 2.488928,2.506267,2.368976,1.987963,1.743471)
Ne.upp <- c(2.90,2.672037, 2.7086,2.5492,2.2547,1.957)
Ne.low <- c(2.40,2.218270,2.2124,2.0480,1.5725,1.251)
NeFOUNDERS <- data.frame(NeFOUNDERS)
Ne.upp <- data.frame(Ne.upp)
Ne.low <- data.frame(Ne.low)

###para el gráfico
plotCI (NeFOUNDERS$NeFOUNDERS, ui=Ne.upp$Ne.upp, li=Ne.low$Ne.low, gap=0,
type="l", pch=2, ylab="Inbreeding effective size (log10)", ylim=c(1,3), xaxt="n",
xlab="")
axis (1, at=1:6, labels=c("Sonora", "TI", "64", "32", "16", "8"))
mtext ("(Simulated)", side=1, line=2, at=1.5)
mtext ("Number of founders from TI", side=1, line=1.8, at=4.5)
legend("topright",col=c("black"), lty=1, pch=2,legend=c(expression(N[crnt])))
text(1,2.995,labels="B",cex=1.8)
dev.off()

```

Apéndice S10. Script en Perl para el análisis de múltiples archivos en Genepop. Para el uso de Genepop en línea de comandos, referirse al manual.

```

#!/usr/bin/perl
@list=`ls *.txt`;
foreach $i (@list) {
    chomp($i);
    next if($i==~/cmdline/);
    next if ($i==~/genepop/);
    print
"\n\n-----
\n-----
\nIniciando $i\n";
    system("Genepop InputFile=$i Mode=batch");
    system("rm fichier.in");
    print "Ya terminó
$i\n-----
\n";
}
####Script de Pearl elaborado por Enrique Scheinvar Laboratorio de Evolución
Molecular#####

```

Referencias de los apéndices

Bishop, M.D., Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., Sunden, S.L., Hawkins, G.A., Toldo, S.S., Fries, R., Grosz, M.D., Yoo, J., 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136, 619-639.

Buchanan, F.C., Crawford, A.M., 1992. Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the

MAF209 locus. *Anim. Genet.* 23, 83.

Crawford, A.M., Montgomery G.W., Pierson, C.A., Brown, T., Dodds, K.G., Sunden, S.L., Henry, H.M., Ede, A.J., Swarbrick, P. A., Berryman, T., 1994. Sheep linkage mapping: nineteen linkage groups derived from the analysis of paternal half-sib families. *Genetics* 137, 573-579.

Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., McGraw, R.A., Sonstegard, T.S., Smith, T.P., Lopez-Corrales, N.L., Beattie, C.W., 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.* 7, 235-249.

Steffen, P., Eggen, A., Dietz, A.B., Womack, J.E., Stranzinger, G., Fries, R, 1993. Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. *Anim. Genet.* 24, 121-124.

Bruniche-Olsen, A. 2010. The Agersoe cattle: the last remnants of the Danish island cattle (*Bos taurus*)?

Mannen, H., Kohno, M., Nagata, Y., Tsuji, S., Bradley, D.G., Yeo, J.S., Nyamsamba, D., Zagdsuren, Y., Yokohama, M., Nomura, K. and Amano, T. 2004. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32 (2), 539-544.

Lai, S.J., Liu, Y.P., Liu, Y.X., Li, X.W. and Yao, Y.G. 2006. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation. *Mol. Phylogenet. Evol.* 38 (1), 146-154.

Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Beja-Pereira, A., Bollongino, R., Bradley, D.G., Colli, L., De Gaetano, A., Edwards, C.J., Feliu, M., Ferretti, L., Ginja, C., Hristov, P., Kantanen, J., Liron, J.P., Magee, D.A., Negrini, R. and Radoslavov, G.A. 2014. Meta-Analysis of Mitochondrial DNA Reveals Several Population Bottlenecks during Worldwide Migrations of Cattle. *Diversity (Basel)* 6 (1), 178-187.

Jia, S., Zhou, Y., Lei, C., Yao, R., Zhang, Z., Fang, X. and Chen, H. 2010. A new insight into cattle's maternal origin in six Asian countries. *J Genet Genomics* 37 (3), 173-180.

Xuebin, Q., Jianlin, H., Rege, J.E.O. and Hanotte, O. Phylogenetic analysis of Chinese indigenous cattle using mitochondrial entire control region variation. 2003. Unpublished

Yue, X.P., Li, R., Xie, W.M., Xu, P., Chang, T.C., Liu, L., Cheng, F., Zhang, R.F., Lan, X.Y., Chen, H. and Lei, C.Z. 2003. Phylogeography and domestication of Chinese swamp buffalo. *PLoS ONE* 8 (2), E56552.

Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R. and Janke, A. 2003. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 269 (1494), 893-904.

Hassanin, A., Delsuc, F., Ropiquet, A., Hammer, C., van Vuuren, B. J., Matthee, C., Couloux, A. (2012). Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. *Comptes rendus biologes*, 335(1), 32-50.